



Sin la duda no hay progreso

C. Darwin

XIII CONGRESO DE INVESTIGACIÓN PARA
ESTUDIANTES PREGRADUADOS DE
CIENCIAS DE LA SALUD
XVII CONGRESO DE CIENCIAS
VETERINARIAS Y BIOMÉDICAS

LIBRO DE ACTAS

Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas, UCM
2019

XIII CONGRESO DE INVESTIGACIÓN
PARA ESTUDIANTES PREGRADUADOS DE
CIENCIAS DE LA SALUD

XVII CONGRESO DE CIENCIAS
VETERINARIAS Y BIOMÉDICAS

LIBRO DE ACTAS

Madrid
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Complutense de Madrid
2019

Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Complutense de Madrid
c. José Antonio Nováis, 12
28040 Madrid
<https://biologicas.ucm.es/>

ISBN: 978-84-09-10763-6

Índice	
Presentación	11
Comités científicos	13
La administración de lidocaína controla la alteración de microARNs posterior a la isquemia reperfundición pulmonar	17
Alberto Alonso	
<i>Trichomonas vaginalis</i>: caballo de Troya de Mycoplasma. Primeros estudios sobre la incidencia de esta endosimbiosis	27
Paula Antón Sánchez	
Parámetros vasculares retinianos en el diagnóstico precoz del Alzheimer y la prometedora Angiografía OCT.	34
Carla Amarante Cuadrado, Raví Vazirani Ballesteros	
¿Es la telemedicina útil en el diagnóstico de úlceras de pie diabético?	42
Carolina Berges Arribas, Raquel de la Cruz Moreno y Cristina Cintas Varón	
Comparativa del potencial alérgico de dos parques urbanos de Madrid	48
Laura Fuertes Basanta, David Martín Alonso García, Claudia García Ventura y Silvia Sabariego Ruiz	
Estudio morfométrico de la aplicación local de IGF-I en un modelo animal de osteoporosis	54
Baoluo Gao, Paula González Martínez, Paula Ciudad Pinto; Enrique Isasi Castellón, Mónica Montiel Bautista	
Vides sanas para la salud	61
Marina García Companys	
Diclofenaco en rapaces: antiinflamatorio mortal	69
Belén Garrido Sánchez y Natalia Carballo Marqués	

Epilepsia estructural felina secundaria a porencefalia. A propósito de un caso clínico	75
Héctor Gil Gonzalo, Alicia González García, Lucía Soria Tobar y Beatriz Villa Bueno	
Conocimiento sin límites	83
Ángela González Fernández, Ana de Luis Calderón, Carla Muñoz Expósito y Silvia Rubiés Sánchez	
Respuesta antibacteriana de nanopartículas de plata embebidas en vidrios mesoporosos SiO₂-CaO-P₂O₅	90
Adela González Jiménez, Sandra Sánchez Salcedo y Ana García Fontecha	
Estructura genética de las poblaciones humanas y sus implicaciones en la salud pública: el caso del Alzheimer	99
Ester Hernández Correas y Miriam Villasevil Gálvez	
Actitudes sexuales en la población universitaria madrileña	105
Lucía Hernández Orozco y Noemí López Núñez	
Obturación endodóntica contrastada o prometedora con cementos bioactivos. ¿Y si el paciente es “mi padre”?	113
Ángel Herrera Martín, Magdalena Azabal Arroyo y Ana Arias Paniagua	
Revisión Teórica de la Inteligencia y sus Implicaciones Socioeducativas	121
Manuel Iglesias Soilán y Daniel Enguídanos Vanderweyen	
Intervención en úlceras por presión	130
Paula Juárez Gómez	
Farmacovigilancia Veterinaria 2.0, ¿pueden ser las Redes Sociales el impulso definitivo para su desarrollo?	137
Beatriz Lago Cruz, Patricia Gómez Lorenzo	
Estudio del ojo seco antes y después de la cirugía refractiva láser relex smile	143
Ana López Vázquez	
Linfoma de Hodgkin: diagnóstico y tratamiento	150
Elisa Martín del Pozo, Clara Costero Fuentes y Elena María Vara Ameigeiras	

Melatonina en uvas y vino	158
María Martín Santamaría	
Exploración de diversidad microbiana buscando nuevos antibióticos en suelos dentro del proyecto Small World Initiative	165
Pablo Mingote Lladó y Jose Carlos de Gracia Díaz	
Relación: grosor del tendón de Aquiles con la dorsi-flexión del tobillo, mediante test de Lunge	172
Vanya Mitkova Dimitrova y Gianmarco Matta Gutiérrez	
Mordida abierta esquelética: métodos no quirúrgicos comparados con la cirugía ortognática	179
Claudia Molina Martos y Beatriz Nadal Guerrero	
The role of sleep in nursing professionals	187
Samir Mohamedi Abdelkader y Víctor Moreda de Figueroa	
Intervención educativa sobre higiene oral en niños plurideficientes	194
Giorgina Mora García, Eva Álvarez de Almeida y Leyla Darwish Mateos	
Hacia un modelo de evaluación de las competencias emocionales en los estudiantes de enfermería	202
Víctor Moreda de Figueroa y Samir Mohamedi Abdelkader	
Utilidad de la PCR múltiple para el diagnóstico de infecciones del Sistema Nervioso Central	210
Silvia Moreno Rodríguez, Marta Pardo de Vera García, Beatriz Quilez Calleja y Paula Saralegui González	
AMP-activated protein kinase: exploring new activators	218
Isabel de Rojas, Aphrodite Choumessi, Javier Lacadena y Mark Rider	
Comparación de la higiene oral en niños con y sin discapacidad: un estudio de investigación	226
Beatriz Romero Triviño	

Adaptación y bienestar en prisión: una revisión a la literatura y una propuesta de intervención	233
Carmen Elisa Salazar Cruz y Paula Andrea Vargas Toro	
Desarrollo de nuevas pruebas serológicas para el diagnóstico temprano de la besnoitiosis bovina.	241
Begonia Lourdes Saldias Aliaga y María Fernández Álvarez	
Búsqueda de biomarcadores de daño asociado al consumo de alcohol	249
Diego San Felipe Riba, Andrea García-Moriño, María Antón, Laura Orio y Fernando Rodríguez de Fonseca	
Queratocono: revisión y manejo optométrico	257
Beatriz Sánchez Gavilán	
Small World Initiative. Nuevas bacterias productoras de antibióticos. Experiencia en el Colegio Alemán de Madrid	265
Irene Sánchez Méndez, Carlos Serna Bernaldo y Cecilia Valenzuela Agüí	
Disforia de género en niños: una perspectiva global	272
Jose Antonio Valdés González	
Estudio de actividades antimicrobianas en cepas aisladas de sedimentos marinos antárticos	278
Javier Vicente Sánchez, Alejandro Alonso Conde y Domingo Marquina Díaz	
La intoxicación por plomo: un problema para la conservación de las aves rapaces	286
Elisa Villén Molina	

Presentación

La celebración del XIII Congreso de Investigación para Estudiantes Pregraduados de Ciencias de la Salud y del XVII Congreso de Ciencias Veterinarias y Biomédicas, organizada en esta edición por la Facultad de Ciencias Biológicas (UCM, abril 2018), ha sido un año más exponente del éxito de una iniciativa de las ocho Facultades de la UCM implicadas en su realización. Este evento proporciona anualmente un lugar de encuentro y el ambiente multidisciplinar propicio para la búsqueda del conocimiento y el desarrollo de la actividad científica, base del progreso para la humanidad (*Sin la duda no hay progreso*, Darwin). Un éxito que es consecuencia del interés, la iniciativa y el trabajo entusiasta de los estudiantes (1351 inscritos de 15 titulaciones de Grado de 25 universidades) que han participado presentando sus trabajos científicos (483) y colaborando en la organización del Congreso, de los profesores tutores y de los que forman parte de comités, coordinan las sesiones, y del apoyo generoso de la UCM y los patrocinadores externos. Las ponencias premiadas que se recogen en este volumen reflejan la diversidad y la extraordinaria calidad científica de los trabajos presentados en el Congreso como ponencias y pósteres, y sustentan y alientan nuestra confianza en nuestros estudiantes y futuros científicos para responder a los desafíos a los que la humanidad y nuestro planeta habrán de seguir haciendo frente en las próximas décadas.

María Teresa González Jaén
Presidenta del Comité Organizador
Facultad de Ciencias Biológicas

“Sin la duda no hay progreso” es la famosa frase de Charles Darwin escogida como lema del último Congreso de Investigación para Estudiantes Pregraduados de Ciencias de la Salud. Y si no hay progreso sin las dudas que anteceden a la búsqueda de respuestas y certezas, no es menos cierto que es difícil que haya progreso sin la implicación en ello de los jóvenes. Trece años han transcurrido desde que se extendió la iniciativa del Congreso de Ciencias Veterinarias y Biomédicas a la celebración anual en la Universidad Complutense de un Congreso de Investigación para estudiantes pregraduados. Un congreso ya consolidado, que hace a nuestros jóvenes protagonistas de la búsqueda de respuestas a sus propias preguntas, de la exploración de los temas de investigación que les resultan más interesantes, en definitiva, de su propia formación como científicos. Iniciativas como esta, que sacan a nuestros alumnos de las aulas y siembran en ellos, futuros biólogos, médicos, farmacéuticos, veterinarios, etc, la semilla del espíritu crítico, de la investigación y de la innovación, son indispensables en una universidad moderna. Trabajos como los que se reúnen en este volumen son un buen ejemplo de la capacidad y motivación que derrochan nuestros jóvenes estudiantes como actores responsables de su propio aprendizaje. Ilustran también la transición continua que les lleva desde la formación y el estudio a la acción en la generación y transmisión de conocimiento. Un paradigma, en definitiva, de la misión que nos encomienda la sociedad a la universidad.

Jesús Pérez Gil
Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas

COMITÉ DIRECTIVO

Prof^a. D^a. María Teresa González Jaén

Decana de la Facultad de Ciencias Biológicas

Prof. D. José Luis Álvarez-Sala Walter

Decano de la Facultad de Medicina

Prof. D. Irene Iglesias Peinado

Decana de la Facultad de Farmacia

Prof. D. Pedro Luis Lorenzo González

Decano de la Facultad de Veterinaria

Prof. D. José Carlos de la Macorra García

Decano de la Facultad de Odontología

Prof. D. Enrique Pacheco del Cerro,

Decano de la Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología

Prof^a. D^a. Nieves Rojo Mora

Decana de la Facultad de Psicología

Prof^a. D^a. Isabel Sánchez Pérez

Decana de la Facultad de Óptica y Optometría

COMITÉ INTERCENTROS-COMITÉ CIENTÍFICO

Prof. D. David Alfaro Sánchez, Facultad de CC. Biológicas

Prof^a. D^a. Carmen Callejas Hervás, Facultad de CC. Biológicas

Prof. D. José Francisco Gómez Sánchez,

Facultad de CC. Biológicas

Prof^a D^a Elena Pérez-Urría Carril, Facultad de CC. Biológicas

Prof^a. D^a Ana Arias Paniagua, Facultad de Odontología

Prof. D. Luis Alfonso Arráez Aybar, Facultad de Medicina

Prof. D. David Carabantes Alarcón,

Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología

Prof. D. Jesús Carballo Álvarez, Facultad de Óptica y Optometría

Prof. D. Juan Gonzalo Carracedo Rodríguez,

Facultad de Óptica y Optometría

Prof^a. D^a. Pilar Casado Martínez, Facultad de Psicología

Prof^a. D^a. Begoña Elorza Barroeta, Facultad de Farmacia

Prof. D. Ignacio de Gaspar y Simón, Facultad de Veterinaria

Prof. D. Jesús Millán Núñez-Cortés, Facultad de Medicina

Prof. D. Joaquín de Nova García, Facultad de Odontología

Prof^a. D. Jesús Román, Facultad de Farmacia

Prof. D. Ángel Sainz Rodríguez, Facultad de Veterinaria

Prof. D. Iván Sánchez Iglesias, Facultad de Psicología

COMITÉ ORGANIZADOR - FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Presidente:

Prof^a D^a. María Teresa González Jaén, Decana

Coordinadores:

Prof. D. David Alfaro Sánchez

Prof. D. José Francisco Gómez Sánchez

Prof^a D^a. Elena Pérez-Urría Carril

Miembros:

Prof^a. D^a. María Abelenda Santa-Cruz

Prof^a. D^a. Carmen Callejas Hervás

Prof^a. D^a. Blanca Cifuentes Cuencas

Prof^a. D^a. Ana Isabel Durand Alegría

D^a. Mercedes García Luengo

Prof^a. D^a. Begoña Gómez de Miguel

D. José María Hernández de Miguel

Prof^a. D^a. Rosario Linacero de la Fuente

Prof^a D^a. Eva Marco López

Prof. D. Benito Muñoz Araujo

Prof^a. D^a. Esther Pérez Corona

Prof^a. D^a. Covadonga Vázquez Estévez

Colaboradores:

Prof^a. D^a. Cristina Blázquez Ortiz

D^a. Mar Carrión Caballo

Prof^a. D^a. Isabel Corpas Vázquez

Prof. D. Alberto Esteban Carrasco

Prof. D. José Javier García-Ceca Hernández

Prof^a. D^a. Ana García Moreno

D^a Jessica Gil Serna

Prof^a. D^a. Eva González Arana

Prof^a. D^a. Luisa Martín Calvarro

Prof^a. D^a. Nerea Moreno García

Prof^a. D^a. M^a Paz Nava Hidalgo

Prof^a. D^a. M^a Juana Navarro Llorens

Prof^a. D^a. Aurora Belén Patiño Álvarez

D^a. Selene Pérez García

Prof^a. D^a. Beatriz Pintos López

Prof^a. D^a. M^a José Valderrama Conde

D^a. Iria Valiño Seoane

La administración de lidocaína controla la alteración de microARNs posterior a la isquemia reperusión pulmonar

Lidocaine administration controls microRNAs alterations observed after lung ischemia reperfusion injury

ALBERTO ALONSO

Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid
albera03@ucm.es

Resumen: La lesión por isquemia reperusión (I/R) está asociada con morbilidad y mortalidad. Los MicroARNs (miARNs) han surgido como reguladores del daño por (I/R) y están involucrados en la patogénesis del rechazo en trasplantes. Se ha demostrado que la lidocaína presenta actividad antiinflamatoria en diversos tejidos, pero su capacidad para modular miARNs no ha sido investigada. Este trabajo pretende investigar el papel de los miARNs en el daño pulmonar por (I/R) en un modelo de autotrasplante pulmonar e investigar el efecto de la lidocaína.

Para ello, 3 grupos (Sham, Control y Lidocaína) de 12 cerdos cada uno, fueron sometidos a un autotrasplante de pulmón. Todos los grupos recibieron la misma anestesia. Además, el grupo lidocaína recibió una administración intravenosa continua de lidocaína (1,5mg/kg/h) durante la cirugía. Se realizaron biopsias de pulmón antes del clampaje de la arteria pulmonar (PreClamp), 30 minutos antes de la reperusión (PreRp), 30 minutos tras la reperusión (Rp-30) y 60 minutos tras la reperusión (Rp-60). Se analizaron las muestras y se midió la expresión por RT-QPCR de diferentes miARNs (miR-122, miR-145, miR-146a, miR-182, miR-107, miR-192, miR-16, miR-21, miR-126, miR-127, miR-142-5p, miR-152, miR-155, miR-223 y let7). Los resultados se normalizaron en función del miR-103.

Se observó que la expresión de miR-127 no aumentó tras (I/R). Let-7d, miR-21, miR-107, miR-126, miR-145, miR-146a, miR-182 y miR-192 aumentaron significativamente 60 minutos tras la reperusión (Control vs. Sham $p < 0.001$). miR-142-5p, miR-152, miR-155 y miR-223 aumentaron significativamente 30 y 60 minutos tras la reperusión (Control vs. Sham $p < 0.001$). La administración de lidocaína fue capaz de atenuar estos cambios de forma significativa (Control vs Lidocaine

$p < 0.001$). En conclusión, el daño pulmonar causado por (I/R) provocó una desregulación de miARNs. La administración de lidocaína redujo significativamente la alteración de miARNs

Palabras Clave: miARNs, lidocaína, isquemia, perfusión, pulmón

Abstract: Ischemia reperfusion injury (IRI) is associated with morbidity and mortality. MicroRNAs (miRNAs) have emerged as regulators of IRI and they are involved in the pathogenesis of organ rejection. Lidocaine has proven anti-inflammatory activity in several tissues, but its modulation of miRNAs has not been investigated. This work aims to investigate the involvement of miRNAs in lung IRI in a lung auto-transplantation model and to investigate the effect of lidocaine.

In order to do so, 3 groups (Sham, Control and Lidocaine), each of 12 pigs, underwent a lung auto-transplantation. All groups received the same anesthesia. In addition, animals of lido group received a continuous IV administration of lidocaine (1.5 mg/kg/h) during surgery. Lung biopses were taken before pulmonary artery clamp, before reperfusion, 30 minutes post-reperfusion (Rp-30) and 60 minutes post-reperfusion (Rp-60). Samples were analyzed for different miRNAs (miR-122, miR-145, miR-146a, miR-182, miR-107, miR-192, miR-16, miR-21, miR-126, miR-127, miR142-5p, miR152, miR155, miR-223 and let7) using RT-QPCR. Results were normalized using miR-103.

The expression of miR-127 did not increase after IRI. Let-7d, miR-21, miR-107, miR-126, miR-145, miR-146a, miR-182 and miR-192 significantly increased at the Rp-60 (Control vs. Sham $p < 0.001$). miR-142-5p, miR-152, miR-155 and miR 223 significantly increased at the Rp-30 (Control vs. Sham $p < 0.001$) and at the Rp-60 (Control vs. Sham $p < 0.001$). The administration of lidocaine was able to attenuate these alterations in a significant way (Control vs Lidocaine $p < 0.001$). In conclusion, lung IRI caused miRNAs dysregulation. The administration of lidocaine reduced significantly miRNAs alterations.

Keywords: miRNAs, lidocaine, ischemia, reperfusion, lung

1. INTRODUCCIÓN

La lesión pulmonar provocada por (I/R) ha sido identificada como una de las principales causas del rechazo agudo primario. Se caracteriza por daño alveolar no específico, edema pulmonar e hipoxemia que se produce dentro de las 72 horas posteriores al trasplante. A pesar de las mejoras en la preservación pulmonar, en las técnicas quirúrgicas y la atención perioperatoria, el daño producido por (I/R) sigue siendo una de las causas principales de morbilidad y mortalidad precoz tras el trasplante pulmonar (de Perrot M *et al.*, 2003). Actualmente, aunque el número de pacientes en la lista de espera continúa aumentando, solo del 10% al 30% de los pulmones de donantes son aptos para trasplante (Ware *et al.*, 2002). Por ello, identificar nuevos biomarcadores para evaluar los pulmo-

nes del donante y garantizar la calidad de los órganos trasplantados para evitar el rechazo a corto y largo plazo es de vital importancia

Durante las últimas décadas, análisis proteómicos y genómicos han demostrado que diferentes procesos celulares y mediadores intervienen antes de que el rechazo se haga evidente. Los miARNs, pequeñas secuencias de ARN que actúan como reguladores post-transcripcionales, han emergido como posibles biomarcadores. Estudios recientes han contemplado la posibilidad de que cambios en la expresión de miARNs puedan ser usados como biomarcadores para la lesión causada por (I/R) (Shapiro *et al.*, 2011).

Se ha observado que anestésicos locales tienen propiedades antiinflamatorias sistémicas (Holman *et al.*, 2001) que son beneficiosas en diferentes tipos de cirugías (McCarthy *et al.*, 2010). La lidocaína inhibe la migración de leucocitos polimorfonucleares hacia las áreas inflamadas al disminuir su movilidad y capacidad de adhesión, resultando en una disminución de la expresión de citoquinas y especies reactivas del oxígeno (Picardi S *et al.*, 2013). Estas propiedades también se han observado en cirugías de pulmón (Garruti *et al.*, 2014); aunque la relación entre anestésicos locales y miARNs apenas ha sido descrita.

Hipotetizamos que los miRNA desempeñan un papel activo en la patogénesis de la lesión por (I/R) reflejándose en las alteraciones de sus niveles que se observan en muestras locales. Además, planteamos la hipótesis de que la administración de lidocaína podría modificar la expresión de miRNAs. Por ello, el objetivo de este estudio fue investigar el papel de los miARNs en el daño pulmonar por (I/R) en un modelo de autotrasplante pulmonar del lóbulo caudal izquierdo e investigar el efecto de la administración de lidocaína.

2. MÉTODOS

Cerdos de la raza large white fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos (Sham, Control y Lidocaína) de 12 cerdos cada uno. El grupo control y lidocaína fueron sometidos a un trasplante ortópico de lóbulo caudal izquierdo. Los cerdos se sometieron a una neumonectomía izquierda seguida de lobectomía craneal. Posteriormente, se reimplantó el lóbulo caudal izquierdo y se reperfundió el injerto. Los animales del grupo Sham solo se sometieron a toracotomía sin ventilación unipulmonar o cirugía

pulmonar. Además, el grupo lidocaína recibió una administración intravenosa continua de lidocaína (1.5mg/kg/h) durante la cirugía.

Se realizaron biopsias de pulmón, mediciones hemodinámicas de gases arteriales y muestras de sangre antes del clampaje de la arteria pulmonar (PreClamp), 30 minutos antes de la reperfusión y ventilación del lóbulo caudal izquierdo reimplantado (PreRep) y 30 (Rp-30) y 60 (Rp-60) minutos tras la reperfusión. La homogeneidad de los resultados (PreClamp y parámetros hemodinámicos previos a la cirugía) se analizaron con análisis de varianza (ANOVA) F-tests. Se usaron los coeficientes de correlación de Pearson para examinar la relación entre los valores de los miRNAs.

3. RESULTADOS

A excepción del miR-127 (no se encontraron diferencias estadísticamente significativas), todos los valores fueron significativamente superiores 60 minutos tras la reperfusión en el grupo control en comparación con los otros 2 grupos ($p < 0.001$) (ver figuras 1, 2 y 3).

Los resultados obtenidos fueron homogéneos en 8 miARNs que presentaban diferencias significativas entre el grupo control y los otros dos grupos 60 minutos tras la reperfusión (con la excepción del miR-126, que presentaba diferencias significativas 30 minutos tras la reperfusión) (ver figura 1). Además, se encontraron resultados homogéneos en 4 miARNs con diferencia significativa entre los tres grupos PreClamp, Rp-30 y Rp-60 (ver figura 2). Finalmente, la figura 3 muestra los resultados del miR-16 que presenta diferencia significativa entre los 3 grupos 60 minutos tras la reperfusión (control vs sham $p < 0.001$ y sham vs lidocaína $p = 0.007$)

4. DISCUSIÓN

La lesión por (I/R) durante los principales procedimientos quirúrgicos conlleva consecuencias devastadoras. Recientemente, se ha sugerido que los miRNAs contribuyen al daño por (I/R) modificando elementos clave de señalización y se han descrito cambios en miRNAs en varios modelos de lesión por (I/R). Se ha demostrado que varios miRNAs controlan procesos importantes que contribuyen a las consecuencias fisiopatológicas de la regulación del daño por (I/R) (Weiss *et al.*, 2012), enfermedades pulmonares

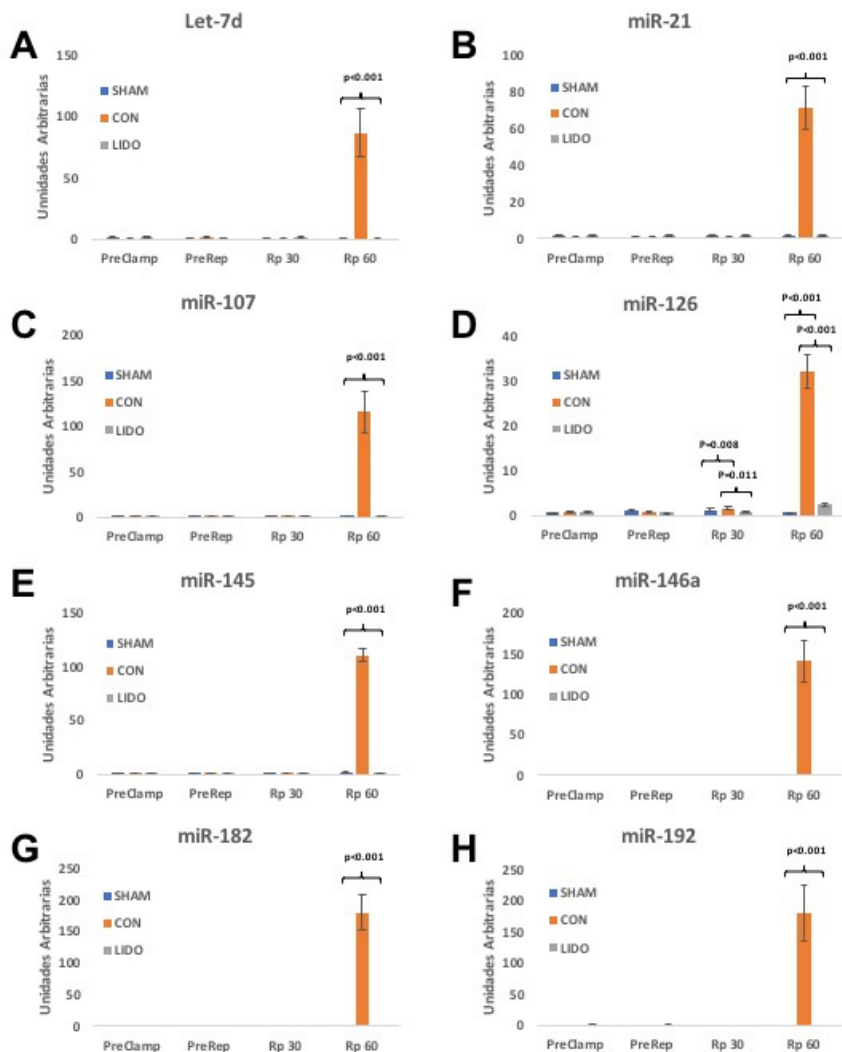


Figura 1. Los datos se expresan como la media \pm error estándar. Las gráficas de barras muestran la expresión de diferentes miRNAs (A, let-7d; B, miR-21; C, miR-107; D, miR-126; E, miR-145; F, miR-146a; G, miR-182; H, miR-192) en muestras de pulmón a lo largo del experimento y compara el grupo Sham (azul) con el grupo Control (naranja) y el grupo Lidocaína (gris claro). PreClamp, valor obtenido antes de clampar la arteria pulmonar; PreRep, valor obtenido antes de comenzar la reperfusión; Rp 30 y Rp 60, valores obtenidos 30 y 60 minutos después de la reperfusión, respectivamente.

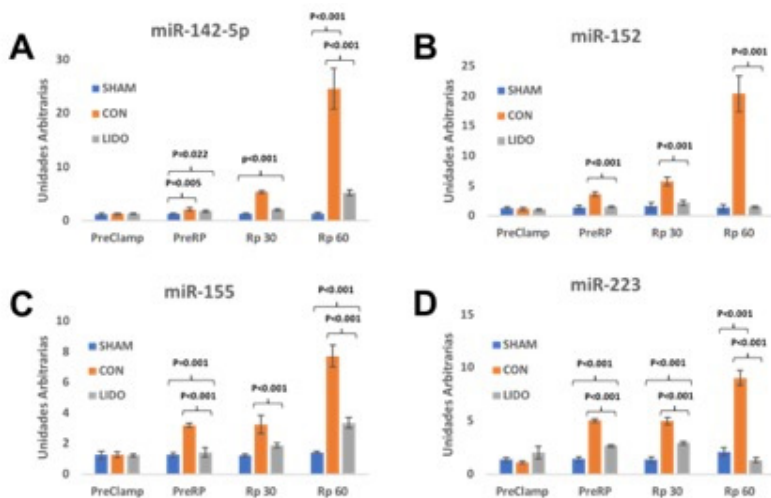


Figura 2: Los datos se expresan como la media \pm error estándar. Las gráficas de barras muestran la expresión de diferentes miRNAs (A, miR-142-5p; B, miR-152; C, miR-155; D, miR-223) en muestras de pulmón a lo largo del experimento y compara el grupo Sham (azul) con el grupo Control (naranja) y el grupo Lidocaína (gris claro). PreClamp, valor obtenido antes de clampar la arteria pulmonar; PreRep, valor obtenido antes de comenzar la reperfusión; Rp 30 y Rp 60, valores obtenidos 30 y 60 minutos después de la reperfusión, respectivamente.

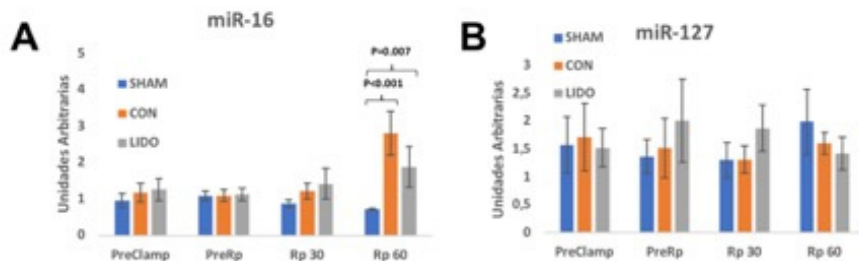


Figura 3: Los datos se expresan como la media \pm error estándar. Las gráficas de barras muestran la expresión de diferentes miRNAs (A, miR-16; B, miR-127) en muestras de pulmón a lo largo del experimento y compara el grupo Sham (azul) con el grupo Control (naranja) y el grupo Lidocaína (gris claro). PreClamp, valor obtenido antes de clampar la arteria pulmonar; PreRep, valor obtenido antes de comenzar la reperfusión; Rp 30 y Rp 60, valores obtenidos 30 y 60 minutos después de la reperfusión, respectivamente.

(Sessa R *et al.*, 2013) y el trasplante de órganos sólidos (Mas *et al.*, 2013); sin embargo, a nuestro entender, este es el primer estudio sobre la expresión de miRNAs en relación con la lesión por (I/R) inducida por el trasplante de pulmón.

La isquemia y la reperfusión se consideran dos eventos separados, cada uno de los cuales causa una lesión pulmonar específica. En el presente estudio, encontramos que la cirugía pulmonar causa cambios importantes en la expresión de varios miRNAs. Por un lado, miR-142-5p, miR-152, miR-155 y miR-223 se regularon positivamente en el grupo control después de la isquemia pulmonar y este aumento también se observó después de la reperfusión, lo que sugiere que estos miRNA pueden estar implicados en ambos eventos. Por otro lado, la expresión de miR-16, miR-21, miR-107, miR-145, miR-146a, miR-182, miR-192 y let-7d solo aumentó 60 minutos después de la reperfusión, lo que refleja que su activación ocurre más tarde y sugiere que la regulación positiva de estos miARN sería una consecuencia de la reperfusión y no de la isquemia. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que los miARNs podrían estar implicados en el control de las lesiones por isquemia y reperfusión y que esta implicación podría ocurrir en diferentes etapas de la lesión por (I/R).

Una de las piedras angulares de la lesión por (I/R) es la respuesta inflamatoria. Durante la isquemia y la posterior reperfusión, se desencadenan secuencias de eventos que incluyen la activación de moléculas de reconocimiento y el flujo de células inflamatorias hacia el órgano lesionado. Estos eventos conducen a la activación de diferentes vías de señalización que inducen la expresión de citoquinas inflamatorias y quimioquinas. Hemos demostrado previamente que la lesión por (I/R) pulmonar indujo un aumento de la expresión de citoquinas proinflamatorias como TNF- α e IL-1 β tanto en el suero como en el tejido pulmonar (Casanova *et al.*, 2011). Además, en este estudio, se ha observado una mayor expresión pro-teica de TNF- α e IL-1 β en PreRep, Rep30 y Rp-60 minutos.

Estudios previos observaron que varios miRNAs están implicados en la respuesta inflamatoria, ya que pueden tanto regular (Sethu S *et al.*, 2011) como ser regulados (O'Connell *et al.*, 2012) por esta. MiR-21, miR-145, miR-146a y miR-155 pueden estar regulados positivamente también por NF κ B y/o por citoquinas inflamatorias tales como TNF- α e IL-1 β . Además, sus efectos sobre la respuesta infamatoria pueden ser opuestos: el miR-155 ha de-

mostrado efectos proinflamatorios (O'Connell *et al.*, 2009), mientras que el miR-146a mostró efectos antiinflamatorios (Boldin *et al.*, 2011). En nuestro estudio, la sobreexpresión de miR-155 aumentó progresivamente desde instantes previos a la reperusión (PreRp) y se observó un resultado similar para miR-142-5p, miR-152 y miR-223, lo que sugiere su implicación en la respuesta inflamatoria causada por (I/R). Esta expresión incrementada de citoquinas proinflamatorias también puede modular la expresión de miRNAs que generan un circuito de retroalimentación.

Debido al daño pulmonar que causan la isquemia y la reperusión muchos estudios se han centrado en la prevención de este daño y la mejora de los métodos de preservación pulmonar, incluido el preacondicionamiento isquémico o farmacológico. Las propiedades antiinflamatorias de la lidocaína ya han sido descritas previamente (Garruti *et al.*, 2014). Junto con estos resultados, en nuestro estudio, la administración de lidocaína redujo la respuesta inflamatoria asociada con el daño por (I/R). De hecho, aunque tanto en el grupo lidocaína como en el grupo control se observó una expresión aumentada de citoquinas proinflamatorias después de la isquemia y la reperusión, fue significativamente menor en el grupo lidocaína.

En un modelo *in vitro*, Sung *et al.* observaron que la lidocaína afectaba a la expresión de miARNs en las células stem adiposas, pero su efecto era evidente solo en algunos miARNs (Sung SH *et al.*, 2012). Creemos que nuestro estudio es el primero en tratar los efectos de la administración de lidocaína en la expresión de miRNAs en un modelo de lesión por (I/R) en trasplante pulmonar *in vivo*.

La administración intravenosa de lidocaína afectó significativamente a la expresión de todos los miRNAs alterados por el daño por (I/R). En particular, canceló o redujo significativamente las alteraciones observadas en el grupo de control. MiR-16, miR-142-5p, miR-152, miR-155 y miR-223 aumentaron significativamente tanto en el grupo control como lidocaína de forma similar a lo observado con respecto a las citoquinas inflamatorias, sin embargo, los valores observados en el grupo lidocaína fueron significativamente menores que los observados en el grupo control. Además, la administración de lidocaína detuvo por completo el aumento de la expresión de miR-let7, miR-21, miR-107, miR-145, miR-146a, miR-182 y miR-192. Por lo tanto, podría hipotetizarse que el efecto protector de la lidocaína contra la respuesta inflamatoria

podría estar mediado, al menos parcialmente, por alteraciones de la expresión de miRNAs.

5. CONCLUSIONES

En nuestro modelo experimental, hemos observado que la lesión por (I/R) pulmonar causó la desregulación de miRNAs y que esto se evitó cuando se administró lidocaína. Las alteraciones de la expresión de miRNAs se acompañaron de un aumento en la expresión de marcadores inflamatorios y apoptóticos, que también se redujeron con la administración de lidocaína.

Estos resultados sugieren que los miRNAs podrían contribuir a inducir una lesión por (I/R) al alterar elementos clave de señalización implicados en la respuesta inflamatoria y/o apoptótica. Por lo tanto, los miRNAs podrían ser potenciales dianas terapéuticas que podrían proteger al pulmón del daño causado por la isquemia y la reperfusión.

BIBLIOGRAFÍA

- Boldin, M.P., Taganov, K.D., Rao, D.S., *et al.* 2011. miR-146a is a significant brake on autoimmunity, myeloproliferation, and cancer in mice. *J Exp Med.* 208:1189–1201.
- Casanova, J., Garutti, I., Simon, C., *et al.* 2011. The effects of anesthetic preconditioning with sevoflurane in an experimental lung auto-transplant model in pigs. *Anesth Analg.* 113:742–748.
- Garutti, I., Rancan, L., Simón, C., *et al.* 2014. Intravenous lidocaine decreases tumor necrosis factor alpha expression both locally and systemically in pigs undergoing lung resection surgery. *Anesth Analg.* 119:815–828.
- Mas, V.R., Dumur, C.I., Scian, M.J., Gehrau, R.C., Maluf, D.G. 2013. MicroRNAs as biomarkers in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 13:11–19.
- McCarthy, G.C., Megalla, S.A., Habib, A.S. 2010. Impact of intravenous lidocaine infusion on postoperative analgesia and recovery from surgery: a systematic review of randomized controlled trials. *Drugs.* 70:1149–1163.
- O'Connell, R.M., Chaudhuri, A.A., Rao, D.S., Baltimore, D. 2009. Inositol phosphatase SHIP1 is a primary target of miR-155. *Proc Natl Acad Sci USA.* 106:7113–7118.
- O'Connell, R.M., Rao, D.S., Baltimore, D. 2012. MicroRNA regulation of inflammatory responses. *Annu Rev Immunol.* 30:295–312.
- Perrot, M. de, Liu, M., Waddell, T.K., Keshavjee, S. 2003. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 167:490–511.

- Picardi, S., Cartellieri, S., Groves, D., *et al.* 2013. Local anesthetic- induced inhibition of human neutrophil priming: the influence of structure, lipophilicity, and charge. *Reg Anesth Pain Med.* 38:9–15.
- Sessa, R., Hata, A. 2013. Role of microRNAs in lung development and pulmonary diseases. *Pulm Circ.* 3:315–328.
- Sethu, S., Melendez, A.J. 2011. New developments on the TNF α - mediated signaling pathways. *Biosci Rep.* 31:63–76.
- Shapiro, M.D., Bagley, J., Latz, J., *et al.* 2011. MicroRNA expression data reveals a signature of kidney damage following ischemia reperfusion injury. *PLoS One* 6:e23011.
- Sung, S.H., Lee, J.G., Yu, S.B., Chang, H.K., Ryu, S.J. 2012. The effects of lidocaine and procaine on microRNA expression of adipocyte-derived adult stem cells. *Korean J Anesthesiol.* 62:552–557.
- Ware, L.B., Wang, Y., Fang, X., *et al.* 2002. Assessment of lungs rejected for transplantation and implications for donor selection. *Lancet*, 360:619–620.
- Weiss, J.B., Eisenhardt, S.U., Stark, G.B., Bode, C., Moser, M., Grundmann, S. 2012. MicroRNAs in ischemia-reperfusion injury. *Am J Cardiovasc Dis.* 2:237–247.

***Trichomonas vaginalis*: caballo de Troya de *Mycoplasma*. Primeros estudios sobre la incidencia de esta endosimbiosis**

***Trichomonas vaginalis*: Trojan horse of *Mycoplasma*. First insights about the incidence of this endosymbiosis**

PAULA ANTÓN SÁNCHEZ

Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid

paulaant@ucm.es

Tutoras: Alexandra Ibáñez Escribano y

Celia Bolumburu Cámara

Resumen: *Trichomonas vaginalis* es el parásito responsable de una de las infecciones de transmisión sexual (ITS) de origen no viral de mayor prevalencia en el mundo. Cursa con un alto número de asintomáticos y se ha demostrado que aumenta el riesgo de adquirir otras ITS como el VIH o el virus del papiloma humano, entre otros. Estudios recientes han confirmado que este parásito puede albergar en su interior a *Mycoplasma hominis*, una bacteria que puede encontrarse en la biota vaginal de mujeres asintomáticas, pero que también puede causar patologías con especial riesgo en embarazadas. Debido a que esta endosimbiosis parece inducir una mayor patogenia en el parásito y que no existen datos sobre la epidemiología de esta enfermedad en la Comunidad de Madrid, en el presente estudio se ha llevado a cabo un análisis de 11 muestras de exudado vaginal de pacientes con tricomonosis, en las que se ha analizado si los parásitos albergaban en su interior o no a dicha bacteria. El 81.8% de las muestras estudiadas fueron positivas para *M. hominis*. Es este porcentaje tan elevado el que nos lleva a concluir sobre la importancia de determinar la presencia o no de este endosimbionte en *T. vaginalis* en los análisis convencionales (circunstancia que no se evalúa en la actualidad), así como alertar sobre la importancia de evaluar este tipo de ITS en las revisiones ginecológicas de rutina.

Palabras clave: *Trichomonas vaginalis*, endosimbiosis, *Mycoplasma hominis*, ETS.

Abstract: *Trichomonas vaginalis* is the causative agent of the most common non-viral sexually transmitted infection (STI) worldwide. Trichomoniasis

courses with a high number of asymptomatic, and increased the risk of acquiring other STI like HIV or papilomavirus among others. *T. vaginalis* has been shown to undergo endosymbiont association with *Mycoplasma hominis*. This bacterium is commonly found in vaginal microbiome but it is also associated with adverse pregnancy outcomes. The present research focuses on the evaluation of 11 clinical samples of vaginal exudate have been analysed, in order to determine if the parasites harboured or not this bacterium, as this endosymbiosis seems to induce a pathogenic behaviour in the parasite. The results showed that 81.8% of the samples were positive for *M. hominis*. This percentage makes us conclude about the importance of determining the possible presence of this symbiont in *T. vaginalis* in positive samples (fact which is not done nowadays), as well as alert about the importance of studying these STI in routine gynaecological visits.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, endosymbiosis, *Mycoplasma hominis*, STD.

1. INTRODUCCIÓN

Trichomonas vaginalis es el flagelado responsable de la única infección parasitaria de transmisión sexual en el hombre. Esta enfermedad afecta a más de 276 millones de personas en el mundo cada año (WHO, 2012). No obstante, a pesar de ser la responsable de más del 50% de todas las ITS curables de origen no viral, a día de hoy continúa sin ser una enfermedad de declaración no obligatoria (EDO), por lo que muchos expertos coinciden en que probablemente estos datos epidemiológicos estén infravalorados.

T. vaginalis invade estructuras del aparato genitourinario de ambos sexos, siendo más notable su presencia en epitelio vaginal y en la región uretral. Mientras que en los hombres el porcentaje de asintomáticos puede llegar a ser del 90%, manifestándose la enfermedad, si lo hace, como una uretritis no gonocócica, prostatitis o epididimitis; en las mujeres, el porcentaje de asintomáticas es menor (de hasta un 50%). En estas pacientes, la infección puede cursar con un amplio rango de síntomas que va desde disuria, leucorrea, prurito o cérvix en forma de fresa, hasta procesos inflamatorios más graves con posible diseminación del parásito e inflamación acompañada de esterilidad transitoria y dispareunia (Becerril, 2015).

A pesar de que a primera vista puede parecer una infección sin importancia, en los últimos años se ha demostrado que esta parasitosis aumenta el riesgo de desarrollo de procesos neoplásicos en próstata (Sutcliffe *et al.*, 2012) y cérvix (Viikki, 2000). Además, puede incrementar el riesgo infección de otras ITS como VIH, VPH, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum* o *Neisseria gonorrhoeae* (Allsworth *et al.*, 2009, Fichorova *et al.*, 2017). Además de estas compli-

caciones, se ha estudiado recientemente la capacidad de *T. vaginalis* para albergar endosimbiontes en su interior. Este es el caso de *Mycoplasma hominis*, un patógeno facultativo presente en la microbiota urogenital de algunas mujeres que parece aumentar la patogenicidad del parásito en el que se hospeda (Fichorova *et al.*, 2017).

Los casos clínicos cuyo origen etiológico son *T. vaginalis* co-infectadas con *M. hominis* tienen un desarrollo diferente respecto de las infecciones que son causadas únicamente por el flagelado. Así, se ha demostrado que, dado que ambas especies comparten una ruta metabólica para la obtención de energía, como es la ruta de degradación de la arginina a través de la ADH (arginina dihidrolasa), las *T. vaginalis* que albergan *M. hominis* tienen unos niveles de ATP intracelular incrementados, lo que las hace crecer a una tasa mayor, incluso un 20% más rápido, respecto a las *T. vaginalis* no infectadas (Margarita *et al.*, 2016). Además, dado que ambos consumen esta arginina en su metabolismo, las tasas de este aminoácido libre en el medio en el que habitan descienden, por lo que los macrófagos, al intentar combatir la infección, no disponen de su sustrato esencial para obtener el óxido nítrico, indispensable para desencadenar la explosión respiratoria que permite eliminar a los patógenos ya fagocitados por estas células (Fichorova *et al.*, 2017). Asimismo, *M. hominis*, es capaz de aumentar la actividad hemolítica de *T. vaginalis*, lo que se relaciona directamente con un aumento en la virulencia del parásito (Margarita *et al.*, 2016), dado que el hierro del grupo hemo de la hemoglobina de los eritrocitos es capaz de inducir factores de virulencia en las mismas.

Se deduce, por tanto, que aquellos casos de *T. vaginalis* en endosimbiosis con *M. hominis* podrían ver facilitada su capacidad patogénica en comparación con las infecciones producidas por el parásito en solitario. En la actualidad, el diagnóstico clínico ante la sospecha de una tricomonosis se realiza únicamente sobre *T. vaginalis*, sin ahondar más allá en si la infección puede estar causada únicamente por ese parásito, o bien por una cepa del mismo en cuyo interior se albergue *M. hominis*. ¿Cómo podríamos, sin embargo, evaluar la presencia de esta bacteria en el interior de *T. vaginalis*?

2. MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio, hemos llevado a cabo un análisis de muestras de exudado vaginal positivas en tricomonosis procedentes de un

hospital universitario de la Comunidad de Madrid y previamente tratados con gentamicina, con el objetivo de comprobar si las *T. vaginalis* de las mujeres infectadas son o no portadoras en su interior de *M. hominis*. El procedimiento para la identificación de *M. hominis* en *T. vaginalis* consta de 3 fases diferenciadas.

Fase 1: Extracción de ADN de un cultivo

La muestra biológica viene del hospital en medio ROIRON en el que se ha depositado una torunda con la toma de exudado vaginal de la paciente. Se corrobora la presencia de parásitos en la muestra y se mantienen los cultivos un par de días con gentamicina. Posteriormente, se procede a la extracción de ADN.

1. Tomar una alícuota de 1 mL y centrifugar a 1800 rpm durante 5 minutos.
2. Resuspender el pellet formado en una mezcla de agua y tampón buffer para PCR, incubándose durante 15 minutos a 90 °C.
3. A continuación, añadir 1,1 µL de proteinasa K e incubar de nuevo la mezcla durante 3 horas a 65 °C. El proceso de extracción finaliza incubando la muestra a 90 °C durante otros 15 minutos.

La comprobación de que se ha llevado a cabo correctamente la extracción de ADN se realiza mediante la amplificación de un fragmento de la región constante del ARNr 18S de *T. vaginalis* (Ibáñez-Escribano *et al.*, 2014).

Fase 2: Amplificación del ADN aislado

Una vez comprobada que se la extracción de ADN de las muestras a analizar se ha realizado correctamente, se procede a determinar la presencia de *Mycoplasma hominis* mediante PCR empleando el *Mycoplasma* Detection Kit (Southern Biothech, Birmingham, USA). Este kit permite detectar diferentes especies de *Mycoplasma* y *Ureaplasma* mediante la amplificación de una región conservada del ARNr 16S. A continuación, se detalla en la Tabla 1 los volúmenes empleados tras la estandarización para esta prueba:

Tabla 1: Detección de *Mycoplasma* spp. mediante la amplificación del ARNr 16S

	Muestra	Control positivo (+)	Control negativo (-)
Agua	13	16	18
dNTP (nucleótidos)	5	5	5
Control interno	2	2	2
TAQ polimerasa	25	25	25
ADN muestra	5	0	0
Control positivo	0	2	0

Fase 3: Electroforesis

Una vez finalizada la PCR, se revela la prueba mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5%.

3. RESULTADOS

Tras realizar la extracción de ADN de 11 aislados de pacientes diagnosticadas en el Servicio de Microbiología del hospital, se corroboró la presencia de ADN de *Trichomonas*, mediante la amplificación de una región constante de la subunidad ribosomal pequeña 18S del parásito de un tamaño de 644 pb (pares de bases).

A continuación, los resultados obtenidos tras la amplificación del ADN extraído de las 11 muestras clínicas se muestran en la Figura 1. En todos los carriles en los que se evalúa la presencia o no de *Mycoplasma* en las muestras clínicas aparece una banda a

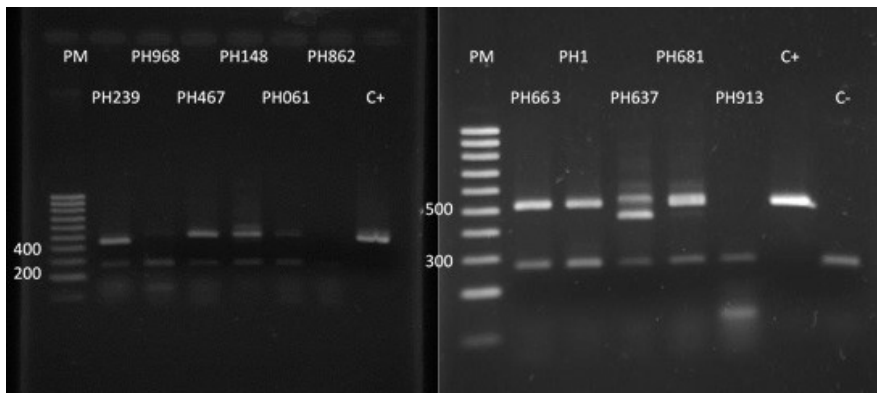


Figura 1. Resultados de la presencia de *Mycoplasma* en las 11 muestras clínicas de *T. vaginalis*

270 pb que corresponde al control interno de la prueba de PCR. Asimismo, todos los ensayos se han llevado a cabo incluyendo un control positivo de ADN de *Mycoplasma* proporcionado por el kit (banda a 503 pb) y un control negativo sin muestra de ADN.

La banda a 503 pb indica, por tanto, que las muestras PH239, PH968, PH467, PH148, PH061, PH663, PH1, PH637 y PH681 resultaron positivas para *M. hominis*. Mientras que en las muestras negativas (PH862 y PH913) sólo aparece la banda de control interno por lo que no existe endosimbiosis *T. vaginalis* y *Mycoplasma*.

4. DISCUSIÓN

De las 11 muestras analizadas en el estudio, 9 han resultado positivas, lo que indica un porcentaje de *T. vaginalis* en endosimbiosis con *M. hominis* del 81,8%. Los porcentajes obtenidos en cuanto a la tasa de aparición de esta bacteria en *T. vaginalis* son, según diferentes estudios, muy diversos, si bien existen algunos que muestran porcentajes tan elevados como los obtenidos en nuestro análisis (Rapelli *et al.*, 1998, Fichorova *et al.*, 2017). El hecho de que, de nuestras muestras, haya salido ese alto porcentaje de positivos, nos lleva a evaluar la importancia de la realización de un análisis más exhaustivo de las muestras de pacientes con tricomonosis. En el caso de que estén infectados con ambos microorganismos en endosimbiosis (hecho que se desconocería debido a que no se realizan este tipo de determinaciones sobre *M. hominis*), el abordaje terapéutico convencional para tratar esta enfermedad (metronidazol) podría no ser suficiente puesto que, como se ha detallado anteriormente, la endosimbiosis que establecen estos 2 patógenos hace que *T. vaginalis* incremente su tasa de reproducción y estimule su virulencia.

Por otro lado, la administración de metronidazol eliminaría los parásitos pero dejaría libres a las bacterias que se albergan en su interior. *Mycoplasma* puede ser patógeno para la mujer y se encontraría en un ambiente más propicio para su proliferación debido a que *T. vaginalis* aumenta el pH vaginal y fagocita bacterias de la biota, favoreciéndose la aparición de nuevas patologías en las que se implica este microorganismo, como son la vaginosis bacteriana o la enfermedad inflamatoria pélvica (Taylor-Robinson, 1996).

5. CONCLUSIONES

Debido a todo lo expuesto se puede concluir que la presencia de *M. hominis* es elevada en las pacientes infectadas por *T. vaginalis*, siendo por ello necesario su estudio con el fin de poder abordar mejor la evolución de la infección en el paciente, así como posibles complicaciones derivadas de la misma.

BIBLIOGRAFÍA

- Allsworth, J.E., Ratner, J.A., Peipert, J.F. 2009. Trichomoniasis and other sexually transmitted infections: results from the 2001–2004 NHANES surveys. *Sexually Transmitted Diseases*. 36: 738-744. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3181b38a4b
- Becerril, M.A. 2015. *Parasitología médica*. McGrawHill Education. México D.F. 454 pp
- Fichorova, R., Fraga, J., Rapelli, P., Fiori, P.L. 2017. Trichomonas vaginalis infection in symbiosis with Trichomonasvirus and Mycoplasma. *Research in Microbiology*. 168: 882-891. doi.:10.1016/j.resmic.2017.03.005
- Ibáñez-Escribano, A., Nogal-Ruiz, J.J., Arán, V.J., Escario, J.A., Gómez-Barrio, A., Alderete, J.F. 2014. Determination of internal transcribed spacer regions (ITS) in Trichomonas vaginalis isolates and differentiation among Trichomonas species. *Parasitology International*. 63: 427-431. doi:10.1016/j.parint.2013.12.017
- Margarita, V., Rappelli, P., Dessi, D., pintus, G., Hirt, R.P., Fiori, P.L. 2016. Symbiotic Association with Mycoplasma hominis can Influence growth rate, ATP production, cytolysis and inflammatory response of *Trichomonas vaginalis*. *Frontiers Microbiology*. 7 (953): 1-11. doi:10.3389/fmicb.2016.00953
- Taylor-Robinson, D. 1996. Infections due to species of Mycoplasma and Ureaplasma: An Update. *Clinical Infectious Diseases*. 23:671–684. doi:10.1093/clinids/23.4.671
- Rapelli, P., Addis, M.F., Carta, F., Fiori, P.L. 1998. Mycoplasma hominis parasitism of *Trichomonas vaginalis*. *Lancet*. 352: 1286. doi: 10.1016/S0140-6736(05)61371-2.
- Viikki, M. 2000. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncologica*. 39: 71-75. doi: 10.1080/028418600431003
- WHO. 2012. *Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infection 2008*, WHO Press, Geneva, Switzerland. p. 2-27

Parámetros vasculares retinianos en el diagnóstico precoz del Alzheimer y la prometedora Angiografía OCT

Retinal vascular parameters on Alzheimer's early diagnosis and the promising OCT angiography

CARLA AMARANTE CUADRADO Y RAVÍ VAZIRANI BALLESTEROS

Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid

caramara@ucm.es, ravivazi@ucm.es

Resumen: La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más común de demencia, constituyendo una fuente importante de dependencia y un problema mayor de salud pública. Va precedida de un deterioro cognitivo leve (DCL). Se sabe que las alteraciones vasculares y de neurodegeneración que caracterizan a la EA comienzan mucho antes de debutar los síntomas. Sin embargo, su diagnóstico sigue basándose en la clínica y sólo se puede alcanzar la certeza con el estudio anatomopatológico cerebral postmortem. La importancia de un diagnóstico precoz y de la identificación de biomarcadores que lo permitan es creciente. Ya se conocía la existencia de alteraciones visuales en la EA. Esto añadido al paralelismo embriológico y anatomofuncional entre la retina y su vascularización y el cerebro, y su mayor accesibilidad para su estudio la señalan como un importante candidato. Son múltiples los parámetros vasculares que se ha visto que varían entre EA, controles e incluso DCL. Los avances en imagen retiniana, en concreto la angiografía por tomografía de coherencia óptica (OCTA) acercan la posibilidad de dar con un biomarcador idóneo. Queda pendiente continuar ampliando el conocimiento sobre estas nuevas técnicas y las alteraciones encontradas.

Palabras clave: Alzheimer, biomarcadores, vascularización retiniana, OCTA.

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia and a major public health and dependence issue. It is generally preceded by mild cognitive impairment (MCI). We are now aware that the vascular and neurodegenerative alterations that characterize AD are initiated long before the symptoms' onset. However, its diagnosis is still

based on clinical parameters and certainty can only be achieved on the anatomopathological postmortem study of the brain. The importance of an early diagnosis and of the identification of biomarkers that could permit it is growing. There was previous knowledge of the existence of visual alterations affecting AD patients. This together with the embryological and anatomo-functional parallelism existing between the retina and its vascularization and the brain and the retina's simpler accessibility for its study have made it a major candidate. Multiple vascular retinal parameters vary among AD, MCI and healthy controls. Advances in retinal imaging (optical coherence tomography angiography- OCTA) bring us closer to finding the ideal biomarker. In order to do so, much more research is yet to be conducted regarding these new techniques, and the alterations that have been found.

Key words: Alzheimer's, biomarkers, retinal vascularization, OCTA

1. INTRODUCCIÓN

La EA es una patología neurodegenerativa progresiva que afecta a la corteza cerebral provocando un deterioro irreversible de las funciones cognitivas. El DCL se ha descrito recientemente como un síndrome en el que el paciente experimenta déficits de memoria (objetivos o subjetivos) o de otras habilidades cognitivas distintas sin que la realización de actividades de la vida diaria ni sus funciones ocupacionales se vean afectadas. El DCL es una condición clínica en la que el riesgo de desarrollar demencia está aumentado, y está aceptado como una etapa transicional entre aquellos sujetos sanos y dementes (Bulut *et al.*, 2016).

Más de 23,4 millones de personas tienen demencia hoy, diagnosticándose 4,6 millones de nuevos casos cada año. Se cree que estas cifras se doblarán cada 20 años. Un 60-70% de los casos de demencia se atribuyen a la EA (Golzan *et al.*, 2017). Según el Instituto Nacional de Estadística la EA fue la 7ª causa más frecuente de muerte y el tipo más frecuente de demencia en la población española.

1.1. Hipótesis patogénicas de la EA.

La hipótesis de la cascada amiloide (Glenner & Wong, 1984) promulga que la producción de $A\beta$ amiloide a partir del procesamiento proteolítico de la *proteína precursora amiloide* (APP) es responsable de la disfunción y muerte neuronal que conducen a la neurodegeneración y la demencia. El procesamiento de APP por las γ y β -secretasas da distintos péptidos $A\beta$ insolubles que se agregan en las placas seniles típicas de la EA. El amiloide también se deposita

en torno a los vasos dando la *angiopatía amiloide cerebral* (AAC). Otro hallazgo histopatológico clásico son los *ovillos neurofibrilares*, constituidos por *proteína tau* (una proteína estabilizadora de microtúbulos presente nivel axonal en las neuronas) en forma hiperfosforilada. Su fosforilación alteraría su función, conduciendo a una disminución del transporte axonal, la disfunción y eventualmente la muerte neuronal (Ballard *et al.*, 2011). Sin embargo, el grado de depósito de A β no parece estar relacionado con la gravedad de la EA (De La Torre, 2004). Incluso se han encontrado densidades equivalentes de depósitos de amiloide en individuos cognitivamente sanos, lo que demuestra que no es el único factor implicado en la patogénesis (Hunter *et al.*, 2012).

La hipótesis vascular (De la Torre & Mussivand, 1993) defiende que el estímulo patogénico inicial está relacionado con los vasos sanguíneos cerebrales. La hipoperfusión prolongada a nivel cerebral sería la base de la neurodegeneración y la disfunción cognitiva que caracterizan a la EA. Se opone así a la asunción anterior del origen neuronal de EA y de que la patología vascular subyacente es secundaria a la neurodegeneración (Rius-Pérez, *et al.*, 2015). Se ha visto una relación entre la disminución del flujo sanguíneo cerebral (FSC) y peores resultados en test cognitivos (Poels *et al.*, 2008). Esta relación también se ha encontrado tanto en DCL (De La Torre, 2013) como en la EA. De La Torre relaciona el hecho de que la edad avanzada se identifique como el principal factor de riesgo para el desarrollo de EA con la disminución fisiológica progresiva del FSC. Ésta se acentuaría con la contribución de otros factores de riesgo vascular (hipertensión, aterosclerosis, diabetes, tabaquismo, obesidad, inactividad física) (Thies & Bleiler, 2011) hasta alcanzarse lo que llama el umbral crítico de hipoperfusión cerebral (CATCH por sus siglas en inglés), que llevaría a la disfunción cognitiva. Junto con la disminución del FSC, la alteración de la barrera hematoencefálica (BHE) (Kapasi & Schneider, 2016) constituiría el nexo entre factores de riesgo cardiovascular y neurodegeneración. La hipoxia promueve la vía amiloidótica del procesamiento de APP y la alteración de la BHE perjudica la eficacia de excreción de los péptidos A β . Ambas se traducen en un acúmulo mayor del A β . Esto a su vez favorece un clima de inflamación y estrés oxidativo que agrava la disfunción vascular. El resultado es una neurodegeneración acelerada y el déficit cognitivo propio de la EA (Rius-Pérez *et al.*, 2015). Más alteraciones descritas a nivel vas-

cular son: disminución de densidad microvascular, fragmentación de vasos sanguíneos y atrofia, diámetro irregular de los diámetro de los vasos sanguíneos, engrosamiento de la membrana basal y acúmulo de colágeno en ella (Brown & Thore, 2012). Otros estudios no encuentran una disminución significativa de la densidad microvascular, pero sí un deterioro de su “calidad” (Hunter *et al.*, 2012).

Lo evidente es que la entidad de EA resulta de una compleja combinación de fenómenos vasculares y de neurodegeneración (Kapasi & Schneider, 2016; Rius-Pérez *et al.*, 2015).

2. DISCUSIÓN

Debido a que el nervio óptico y la retina se desarrollan como una extensión directa del diencefalo, no es sorprendente que la neurodegeneración causada por procesos como la EA también se extienda a la retina, refiriendo muchos pacientes síntomas visuales y presentando alteraciones en los tests de función visual (Salobarra-García *et al.*, 2016) long-term progressive degenerative disorder with great social impact. It is currently thought that, in addition to neurodegeneration, vascular changes also play a role in the pathophysiology of the disease. Visual symptoms are frequent and are an early clinical manifestation; a number of psychophysiologic changes occur in visual function, including visual field defects, abnormal contrast sensitivity, abnormalities in color vision, depth perception deficits, and motion detection abnormalities. These visual changes were initially believed to be solely due to neurodegeneration in the posterior visual pathway. However, evidence from pathology studies in both animal models of AD and humans has demonstrated that neurodegeneration also takes place in the anterior visual pathway, with involvement of the retinal ganglion cells’ (RGCs).

Los pequeños vasos retinianos comparten características anatómicas, fisiológicas y embriológicas con los cerebrales (Cunha *et al.*, 2017), de ahí que se comenzaran a considerar como potenciales biomarcadores por la facilidad para su examen no invasivo gracias a la transparencia del sistema de lentes del ojo. Entre otros se comenzó con el uso de tecnologías como láser Doppler, fotografía del fondo de ojo o tomografía de coherencia óptica (OCT).

La reciente inclusión de la OCTA en el estudio de la retina es muy prometedora. La OCTA mide las diferencias entre B-Scans

secuenciales por OCT de un área determinada. Así proporciona imágenes de la microvasculatura retiniana y coroidea de forma no invasiva y sin el uso de contraste. Muestra de forma no superpuesta y a gran calidad el plexo retiniano superficial, el plexo retiniano profundo, la retina y la coriocapilar. (Rosenfeld *et al.*, 2016). En el estudio de la retina y coroides mediante OCT existe una intervariabilidad entre individuos sanos que es dependiente de la edad y del sexo como son el grosor macular, de la capa de fibras nerviosas y corioideo, e incluso estos parámetros varían en función de la hora del día y el estado de hidratación en el caso del estudio de la coroides (Ooto, Hangai, & Yoshimura, 2015).

Las primeras alteraciones vasculares retinianas descritas en la EA fueron una disminución del diámetro venoso y disminución del flujo venoso (en probable relación con la arteriolosclerosis) (Berisha *et al.*, 2007) respecto a controles sanos. Más adelante se observó el flujo venoso retiniano significativamente disminuido en pacientes con EA y una tendencia a un flujo intermedio entre el grupo de EA y el grupo control en los pacientes con DCL (Feke *et al.*, 2015). La velocidad de flujo se halló disminuida tanto en los pacientes con EA como con DCL. También se han descrito estructuras venulares menos complejas (dimensiones fractales inferiores) y con alteraciones en sus patrones de ramificación, así como más pequeñas y con vasos retinianos más tortuosos (Williams *et al.*, 2015).

Estos cambios en la EA y el DCL a nivel retiniano serían paralelos a los de la red microvascular cerebral. Se ha propuesto que sería más apropiada para la detección de cambios precoces y monitorización de la progresión la medición del flujo sanguíneo retiniano que las mediciones del diámetro vascular (Javaid *et al.*, 2016).

La mayoría de artículos coinciden tanto los pacientes con EA como con DCL presentan un grosor corioideo (GC) disminuido, más marcado en los primeros (Bulut *et al.*, 2016). A pesar de que el adelgazamiento corioideo es fisiológico en el envejecimiento (Williams *et al.*, 2015) en los pacientes con EA estaba más adelgazada significativamente en 2 localizaciones temporales a la fóvea (Cunha *et al.*, 2017). En el examen de coroides con OCTA se encontró una alta correlación positiva entre la escala Mini Mental State Examination (MMSE)- muy empleada en la monitorización de la disfunción cognitiva- la densidad vascular retiniana y el GC (Bulut *et al.*, 2017). La relación entre MMSE y GC ya la habían enunciado antes empleando OCT (Bulut *et al.*, 2016). Sin embargo, en otros

estudios no se ha encontrado correlación entre el MMSE y GC (Gharbiya *et al.*, 2014) o entre MMSE y otros parámetros vasculares retinianos (Williams *et al.*, 2015).

3. CONCLUSIÓN

Un biomarcador ampliamente accesible y estandarizable, inocuo y de bajo coste para la detección precoz de la EA supondría un beneficio en: i) diagnóstico temprano de la EA; ii) inclusión en ensayos clínicos de fármacos con potencial modificador de la enfermedad; iii) prevención de la prescripción de medicación que pueda empeorar la función cognitiva; iv) insistir en el tratamiento de comorbilidades que pudieran empeorar la función cognitiva; v) a nivel familiar ayudaría en la anticipación, el acceso a ayudas y entrenamiento específico de cuidadores y la planificación para el futuro.

Cada vez se dispone de más información acerca de los cambios vasculoretinianos que acompañan a la EA y a sus estados previos. A esto se le añaden los cambios a nivel neuroretiniano y las relaciones entre ambos. La mejora de las técnicas de imagen (OCTA) supone un paso para encontrar nuevos biomarcadores que en un futuro permitirán anticiparse a la progresión del DCL hacia una EA.

AGRADECIMIENTOS

A nuestros tutores: Elena Salobar-García Martín y José Manuel Ramírez Sebastián (Instituto de investigaciones oftalmológicas Ramón Castroviejo, Universidad Complutense de Madrid).

BIBLIOGRAFÍA

- Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A., Brayne, C., Aarsland, D. & Jones, E. 2011. Alzheimer's disease. *The Lancet*. 377(9770): 1019–1031. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61349-9
- Berisha, F., Fekke, G. T., Trempe, C. L., McMeel, J. W. & Schepens, C. L. 2007. Retinal abnormalities in early Alzheimer's disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 48(5): 2285–2289. doi: 10.1167/iov.06-1029
- Brown, W. R. & Thore, C. R. 2012. Cerebral microvascular pathology in aging and neurodegeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 37(1): 56–74. doi: 10.1111/j.1365-2990.2010.01139.x.Review

- Bulut, M., Kurtulu, F., Gözkaya, O., Erol, M. K., Cengiz, A., Akıdan, M. & Yaman, A. 2017. Evaluation of optical coherence tomography angiographic findings in Alzheimer's type dementia. *British Journal of Ophthalmology*. 102:233-237. [bjophthalmol-2017-310476](https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2017-310476). doi: 10.1136/bjophthalmol-2017-310476
- Bulut, M., Yaman, A., Erol, M. K., G, F. K., Toslak, D., L, B. Do, ... Ba, G. 2016. Choroidal Thickness in Patients with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Type Dementia. *Journal of Ophthalmology*, vol. 2016, Article ID 7291257, 7 pages. [ps://doi.org/10.1155/2016/7291257](https://doi.org/10.1155/2016/7291257)
- Cunha, J. P. J. P., Proença, R., Dias-Santos, A., Melancia, D., Almeida, R., Águas, H., ... Castanheira-Dinis, A. 2017. Choroidal thinning: Alzheimer's disease and aging. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 8: 11–17. doi: 10.1016/j.dadm.2017.03.004
- De La Torre, J. C. 2004. Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *Lancet Neurology*. 3(3): 184–190. doi: 10.1016/S1474-4422(04)00683-0
- De La Torre, J. C. 2013. Vascular risk factors: A ticking time bomb to alzheimer's disease. *American Journal of Alzheimer's Disease and Other Dementias*. 28(6):551–559. doi: 10.1177/1533317513494457
- De la Torre, J. C. & Mussivand, T. 1993. Can disturbed brain microcirculation cause Alzheimer's disease? *Neurological Research*. 15(3):146–153. doi: 10.1080/01616412.1993.11740127
- Feke, G. T., Hyman, B. T., Stern, R. A. & Pasquale, L. R. 2015. Retinal blood flow in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 1(2): 144–151. doi: 10.1016/j.dadm.2015.01.004
- Gharbiya, M., Trebbastoni, A., Parisi, F., Manganiello, S., Cruciani, F., D'Antonio, F., ... De Lena, C. 2014. Choroidal thinning as a new finding in Alzheimer's Disease: Evidence from enhanced depth imaging spectral domain optical coherence tomography. *Journal of Alzheimer's Disease*. 40(4): 907–917. doi: 10.3233/JAD-132039
- Glenner, G. G. & Wong, C. W. 1984. Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 120(3): 885–890. doi: 10.1016/S0006-291X(84)80190-4
- Golzan, S. M., Goozee, K., Georgevsky, D., Avolio, A., Chatterjee, P., Shen, K., ... Graham, S. L. 2017. Retinal vascular and structural changes are associated with amyloid burden in the elderly: ophthalmic biomarkers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, 9 (1): 1–9. doi: 10.1186/s13195-017-0239-9
- Hunter, J. M., Kwan, J., Malek-Ahmadi, M., Maarouf, C. L., Kokjohn, T. A., Belden, C., ... Roher, A. E. 2012. Morphological and pathological evolution of the brain microcirculation in aging and Alzheimer's disease. *PLoS ONE*. 7(5):1–12. doi: 10.1371/journal.pone.0036893
- Javaid, F. Z., Brenton, J., Guo, L. & Cordeiro, M. F. 2016. Visual and ocular manifestations of Alzheimer's disease and their use as bio-

- markers for diagnosis and progression. *Frontiers in Neurology*. 7: 55. doi: 10.3389/fneur.2016.00055
- Kapasi, A. & Schneider, J. A. 2016. Vascular contributions to cognitive impairment, clinical Alzheimer's disease, and dementia in older persons. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 1862(5): 878–886. doi: 10.1016/j.bbdis.2015.12.023
- Ooto, S., Hangai, M. & Yoshimura, N. 2015. Effects of Sex and Age on the Normal Retinal and Choroidal Structures on Optical Coherence Tomography. *Current Eye Research*. 40(2): 213–225. doi: 10.3109/02713683.2014.952828
- Poels, M. M. F., Ikram, M. A., Vernooij, M. W., Krestin, G. P., Hofman, A., Niessen, W. J., ... Breteler, M. M. B. 2008. Total cerebral blood flow in relation to cognitive function: The Rotterdam Scan study. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 28(10):1652–1655. doi: 10.1038/jcbfm.2008.62
- Rius-Pérez, S., Tormos, A. M., Pérez, S. & Taléns-Visconti, R. 2015. Vascular pathology: Cause or effect in Alzheimer disease? *Neurología (English Edition)*. 33(2): 71–140. doi: 10.1016/j.nrleng.2015.07.008
- Rosenfeld, P. J., Durbin, M. K., Roisman, L., Zheng, F., Miller, A., Robbins, G., ... Gregori, G. 2016. ZEISS Angioplex™ Spectral Domain Optical Coherence Tomography Angiography: Technical Aspects. *Developments in Ophthalmology*. 56: 18–29. doi: 10.1159/000442773
- Salobar-García, E., Ramírez, A. I., de Hoz, R., Rojas, P., Salazar, J. J., Rojas, B., ... Ramírez, J. M. (2016). The Impact of the Eye in Dementia: The Eye and its Role in Diagnosis and Follow-up. Dr. Davide Moretti (Ed.). *Update on Dementia*. InTech. <https://doi.org/10.5772/64490>
- Thies, W. & Bleiler, L. 2011. 2011 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia*. 7(2):208–244. doi: 10.1016/j.jalz.2011.02.004
- Williams, M. A., McGowan, A. J., Cardwell, C. R., Cheung, C. Y., Craig, D., Passmore, P., ... McKay, G. J. 2015. Retinal microvascular network attenuation in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 1(2): 229–235. doi: 10.1016/j.dadm.2015.04.001

¿Es la telemedicina útil en el diagnóstico de úlceras de pie diabético?

Is telemedicine a useful tool in the diagnosis of diabetic foot ulcers?

CAROLINA BERGES ARRIBAS, RAQUEL DE LA CRUZ MORENO

Y CRISTINA CINTAS VARÓN

Universidad Complutense de Madrid

ccintasv@gmail.com

Tutora: Irene Sanz Corbalán

Resumen: El objetivo de este estudio es conocer la utilidad de la telemedicina en la evaluación de úlceras de pie diabético, observando la concordancia interobservador dependiendo de los diferentes niveles de experiencia y la concordancia entre la valoración clínica y fotográfica. En una muestra de 24 úlceras de pie diabético (UPD) de la Clínica Universitaria de Podología (Madrid), se analizan cuatro parámetros establecidos por la guía de consenso *Triangle Wound Assesement* (TWA). Los resultados obtenidos muestran que independientemente del nivel de experiencia existe una concordancia aceptable entre los observadores en la valoración clínica y fotográfica en la evaluación del nivel de exudado y del lecho en las UPD.

Palabras clave: Pie diabético, telemedicina, úlcera de pie diabético.

Abstract: The objective sought by this study is to see the utility of telemedicine in the evaluation of diabetic foot ulcer, considering interobserver concordance depending on the different levels of experience and interobserver concordance between clinical and photographic assesement. In a sample of 24 diabetic ulcers (UPD) from the University Clinic of Podiatry (Madrid), four parameters established by the Triangle Wound Assessment (TWA) are analyzed. The results showed that regardless of the level of experience, there is an acceptable concordance between the observers in the clinical and photographic assesement in the evaluation of the level of exudate and wound bed in the UPD.

Keywords: Pie diabético, telemedicina, úlcera de pie diabético. Diabetic foot, telemedicine, diabetic foot ulcer.

1. INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud, el síndrome de pie diabético se define como la presencia de ulceración, infección y/o gangrena del pie asociada a neuropatía diabética y a diferentes grados de enfermedad vascular periférica, resultados de la interacción compleja de diferentes factores inducidos por una hiperglucemia mantenida. La prevalencia de UPD supera el 25 % en pacientes con Diabetes Mellitus (DM) (K. Markakis, F. L. Bowling, 2016) y los costes sociosanitarios derivados de la curación de la misma ascienden a 1585€ por paciente (González, Faure, & del Castillo, 2006). Además un paciente que sufre una UPD tiene indicación de reposo e inmovilización durante su tratamiento, dificultando el manejo ambulatorio de estos pacientes y su desplazamiento para realizar la cura de las mismas. Por ello, actualmente la telemedicina tiene un papel importante en ciertas patologías, facilitando el diagnóstico e información médica a distancia con el fin de aumentar la calidad de la atención y disminuir el gasto en recursos médicos (Foltynski *et al.*, 2011) (Ladyzynski, 2018; Yap *et al.*, 2017; Aragón-Sánchez, Quintana-Marrero, Aragón-Hernández & Hernández-Herero, 2017). Sin embargo este telerdiagnóstico puede crear subjetividad en la evaluación de la patología y falta de concordancia entre clínicos.

Por ello, los objetivos de este estudio son, evaluar la concordancia interobservador entre la evaluación clínica en directo de la UPD y la evaluación fotográfica según el nivel de experiencia y segundo, evaluar la concordancia interobservador entre evaluación clínica y fotográfica.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una cohorte observacional con una muestra de 24 UPD de un total de 18 pacientes con DM que acudieron a la Unidad de Pie Diabético de la Clínica Universitaria de Podología de la Universidad Complutense de Madrid de manera consecutiva. Se excluyeron los pacientes sometidos a una intervención quirúrgica que presentasen sutura.

Las úlceras fueron evaluadas *in situ* por un grupo formado por tres observadores con diferente grado de experiencia y posteriormente fueron evaluadas en fotografía por otro grupo distinto de observadores también con diferente grado de experiencia. Los

componentes de sendos grupos fueron: un alumno sin experiencia en PD, un residente con dos años de formación en PD y, por último, un adjunto con 5 años de experiencia en PD.

El grupo de observación que evaluó las lesiones in situ procedió al análisis de la úlcera después de la retirada del vendaje y el lavado de la lesión. Posteriormente, se procedió a la toma de una imagen de la lesión en las mejores condiciones de iluminación y perspectiva con el mismo dispositivo (iPhone 7). Una vez recopiladas todas las fotografías de las úlceras, el segundo grupo de observación realizó el análisis de los mismos parámetros. Los observadores de ambos grupos realizaron la evaluación de las lesiones de manera independiente y cegada respecto al resto de observadores.

Los parámetros registrados de las UPD por ambos grupos fueron recogidos de la guía de consenso Triangle Wound Assessment (TWA) que permite a los profesionales evaluar y manejar todas las áreas de la herida y establecer los objetivos de gestión y selección del tratamiento óptimo. Divide la evaluación de la herida en tres áreas: borde de la herida, lecho y piel perilesional. Dichos parámetros se evaluaron de forma dicotómica en sano y afectado. La piel perilesional afectada incluye las variables: maceración, excoiación, piel seca, hiperqueratosis, callosidad y eczema. El borde afectado incluye las variables: maceración, deshidratación, cavitación y sobre elevación. El lecho afectado incluye las variables: granulación, necrosis y esfacelo. El exudado afectado se define como bajo, medio o alto.

El análisis estadístico se realizó mediante el software SPSS Statistics (versión 24) para Windows. Las variables cualitativas se describieron mediante la distribución de frecuencias y porcentajes. Para evaluar la concordancia interobservador se utilizó el Test Kappa y para evaluar la concordancia interobservador entre los tres niveles de experiencia se utilizó el software EPIDAT (versión 3.1).

3. RESULTADOS

En la tabla 1 se exponen los resultados en relación al grado de concordancia interobservador entre evaluación fotográfica y evaluación en directo según el nivel de experiencia, se observa concordancia buena (0.61-0.8) en el parámetro lecho de la úlcera, siendo los observadores los de menor experiencia. Se observó una concordancia aceptable (0.41-0.6) en los parámetros piel perilesional

(experiencia moderada), lecho de la úlcera (experiencia moderada) y presencia de exudado (experiencia baja y moderada). El resto de resultados tuvieron una concordancia débil ($<0,41$) o mala.

Tabla 1. Concordancia interobservador entre evaluación fotográfica y evaluación en directo según el nivel de experiencia.

Variable	Observación entre evaluación fotográfica y en directo	Indice Kappa	Concordancia	pvalor
Piel perilesional	Experiencia baja	0,22	Débil	$<0,05$
	Experiencia moderada	0,59	Aceptable	0,003
	Experiencia alta	0,11	Pobre	$<0,05$
Borde de la úlcera	Experiencia baja	$<0,00$	Mala	$<0,05$
	Experiencia moderada	$<0,00$	Mala	$<0,05$
	Experiencia alta	0,24	Débil	$<0,05$
Lecho de la úlcera	Experiencia baja	0,67	Buena	0,000
	Experiencia moderada	0,48	Aceptable	0,017
	Experiencia alta	$<0,00$	Mala	$<0,05$
Presencia de exudado	Experiencia baja	0,44	Aceptable	0,019
	Experiencia moderada	0,44	Aceptable	0,028
	Experiencia alta	0,28	Débil	$<0,05$

En la tabla 2 se expone la concordancia interobservador entre los niveles de experiencia según la evaluación fotográfica o en directo. Fue débil ($<0,41$) o mala ($>0,0$) en piel perilesional y borde, mientras que en lecho de la úlcera y presencia de exudado fue aceptable (0,41-0,6).

Tabla 2. Concordancia interobservador entre los niveles de experiencia según la evaluación fotográfica o en directo.

Variable	Observación entre experiencias baja, moderada y alta	Indice Kappa	Concordancia	P-valor
Piel perilesional	Directo	0,39	Débil	0,000
	Fotografía	0,35	Débil	0,000
Borde de la úlcera	Directo	$<0,00$	Mala	$<0,05$
	Fotografía	0,15	Débil	$<0,05$
Lecho de la úlcera	Directo	0,55	Aceptable	0,000
	Fotografía	0,49	Aceptable	0,000
Presencia de exudado	Directo	0,51	Aceptable	0,000
	Fotografía	0,27	Débil	0,01

4. DISCUSIÓN

En este estudio se puede observar que independientemente del nivel de experiencia, la concordancia entre la evaluación clínica y fotográfica es buena en los parámetros de exudado y lecho de la úlcera. Por lo tanto, el nivel de experiencia no mejora la concordancia entre ambas evaluaciones. Esto puede deberse a que cuanto mayor es el nivel de experiencia y mayor es el bagaje del sanitario, más amplio es su abanico de posibilidades de elección.

Además, los parámetros con mayor concordancia entre el grupo que evaluaba la fotografía y el grupo que realizaba la evaluación clínica son factores objetivos y con menor posibilidad de subjetividad en el resultado. El nivel de exudado y el lecho sano de la úlcera son parámetros sencillos de determinar y de dicotomizar a simple vista en una imagen.

Es importante establecer un consenso que permita definir los parámetros que se evalúan fotográficamente en una UPD, cómo existen en otros ámbitos de la medicina, como es la dermatología (Prieto & Laguna, 2004; Romero & Garrido, 2008). El telediagnóstico en lesiones dérmicas como el nevus ha sido útil gracias al algoritmo ABCD.

Por todo esto, a día de hoy el telediagnóstico es una herramienta aplicable a la evaluación de las úlceras de pie diabético teniendo en cuenta parámetros objetivos y sencillos como es el nivel de exudado o el lecho de la úlcera. El telediagnóstico podría postularse como una herramienta de fácil manejo que permitiría reducir el número de visitas a consulta reduciendo así los costes sociosanitarios derivados (Foltynski *et al.*, 2011; Ladyzynski, 2018 y Aragón-Sánchez *et al.*, 2017). Para ello, se recomiendan futuros estudios que demuestren la fiabilidad intra e interobservador.

5. CONCLUSIONES

En base a este estudio podemos concluir que, independientemente del nivel de experiencia existe una concordancia aceptable entre los clínicos en la valoración clínica y la valoración fotográfica en la evaluación del nivel de exudado y del tejido no viable en las UPD.

BIBLIOGRAFÍA

- Aragón-Sánchez, J., Quintana-Marrero, Y., Aragón-Hernández, C. & Hernández-Herero, M. J. 2017. ImageJ: A Free, Easy, and Reliable Method to Measure Leg Ulcers Using Digital Pictures. *International Journal of Lower Extremity Wounds*. 16(4), 269–273. doi: 10.1177/1534734617744951
- Foltynski, P., Ladyzynski, P., Migalska-Musial, K., Sabalinska, S., Ciechanowska, A. & Wojcicki, J. 2011. A New Imaging and Data Transmitting Device for Telemonitoring of Diabetic Foot Syndrome Patients. *Diabetes Technology & Therapeutics*. 13(8), 861–867. doi: 10.1089/dia.2011.0004
- G.Romero, J.A.Garrido, M. G.-A. 2008. Telemedicina y teledermatología (I): concepto y aplicaciones. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. 99(I), 506–522. doi: 10.1016/S0001-7310(08)74735-5
- González, P., Faure, E. & del Castillo, A. 2006. Coste de la diabetes mellitus en España. *Medicina Clínica*. 127(20), 776–784. doi: 10.1157/13095815
- K. Markakis, F. L. Bowling, A. J. M. B. 2016. The diabetic foot in 2015: an overview. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 32(30), 169–178. doi: 10.1002/dmrr
- Ladyzynski, P. 2018. Analysis: A Step Toward Standardizing Diabetic Foot Images. *Journal of Diabetes Science and Technology*. 12(1), 174–175. doi: 10.1177/1932296817740593
- Prieto, Manuel E., Miguel A. Laguna, G. R. 2004. *DERMARED: Un Método y una Herramienta para Telediagnóstico en Dermatología*. (January 2016). doi: 10.13140/RG.2.1.2424.9367
- Yap, M. H., Chatwin, K. E., Ng, C., Abbott, C. A., Bowling, F. L., Rajbhandari, S., Reeves, N. D. 2018. A New Mobile Application for Standardizing Diabetic Foot Images. *J Diabetes Sci Technol*. 12(1): 169–173. doi: 10.1177/1932296817713761

Comparativa del potencial alérgico de dos parques urbanos de Madrid

Comparison of the allergic potential of two urban parks in Madrid

LAURA FUERTES BASANTA¹, DAVID MARTIN ALONSO GARCÍA¹,
CLAUDIA GARCÍA VENTURA² Y SILVIA SABARIEGO RUIZ¹

1. Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid

2. ETSI de Montes, Forestal y del Medio Natural,

Universidad Politécnica de Madrid.

lafuerte@ucm.es; daval001@ucm.es

Resumen: A pesar de que los espacios verdes urbanos ofrecen grandes beneficios para la salud de los ciudadanos, muchas especies arbóreas de estos lugares provocan alergia en la población. El objetivo de este trabajo es aplicar un índice de alergenidad potencial de los espacios verdes urbanos (I_{UGZA}) a dos parques de la ciudad de Madrid, con el fin de valorar su potencial alérgico e identificar las especies que más contribuyen a aumentar su valor. Ambos parques presentaron valores por encima del umbral (0,3): 0,54 para el Parque Alfredo Kraus y 0,57 para el Parque de Berlín. En general, en los dos parques, las especies que más contribuyen a aumentar el valor del índice han sido: *Platanus spp.*, *Aesculus hippocastanum*, *Cedrus spp.* y *Pinus pinea*. Una solución factible para disminuir el riesgo para la población alérgica podría consistir en la utilización de especies menos alérgicas, entomófilas o de ejemplares femeninos.

Palabras clave: índice de alergenidad, polen alérgico, parques urbanos, Madrid.

Abstract: Although urban green spaces offer great benefits for the health of citizens, many tree species from these places cause allergy in the population. The aim of this work is to apply an index of potential allergenicity of urban green spaces (I_{UGZA}) in two parks of Madrid, to assess their allergenic potential and identify the species that most contribute to increase this value. Both parks presented a value above the threshold (0,3): 0,54 for Alfredo Kraus Park and 0,57 for Berlin Park. In general, in the two parks, the species that contribute the most to increase the index value had been: *Platanus spp.*, *Aesculus hippocastanum*, *Cedrus spp.* and *Pinus pinea*.

A feasible solution for reducing the risk to the allergic population could be the use of less allergenic, entomophilic or female specimens.

Keywords: allergenicity index, allergenic pollen, urban parks, Madrid.

1. INTRODUCCIÓN

Los parques y jardines urbanos juegan un papel fundamental en la sociedad actual, cada vez más urbanizada y concienciada de la importancia que tienen en su vida diaria. Se consideran zonas verdes a los espacios abiertos, de carácter público, que tienen un papel básico en la satisfacción de las necesidades ciudadanas de ocio y esparcimiento y contribuyen a la mejora de la calidad ambiental de la ciudadanía. Los espacios verdes urbanos ofrecen múltiples beneficios para la salud, pues actúan como pulmones que renuevan el aire contaminado y mejoran el estado de salud tanto mental como físico de la población (Chenoweth & Goster, 1990).

Recientes estudios muestran que se está produciendo un aumento considerable de la preocupación de los ciudadanos por el incremento de las alergias a especies arbóreas, situadas en los parques urbanos, por tratarse de árboles con una elevada producción polínica y un alto contenido de alérgenos en sus granos de polen.

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es aplicar el índice de alergenicidad potencial de espacios verdes urbanos (I_{UGZA} , por sus siglas en inglés) a 2 parques situados en la ciudad de Madrid, con el fin de prevenir a los posibles visitantes y para que, en futuros proyectos de planificación de nuevos espacios verdes, se seleccionen especies con menor potencial alergénico y con tasas más bajas de emisión polínica.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Los parques seleccionados para el estudio corresponden al parque Alfredo Kraus (distrito Hortaleza/3,85 ha) y al parque de Berlín (distrito Chamartín/4,9 ha). En el primero se concentran 818 árboles repartidos en 16 familias botánicas, con un total de 38 especies; y en el segundo 770 árboles pertenecientes a 18 familias botánicas con 35 especies. Las características generales de los dos parques considerados en nuestro estudio se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características generales de los parques considerados en este estudio (las especies más representativas se muestran en orden decreciente de abundancia).

Espacio Verde	Coordenadas Geográficas	Superficie (M ²)	Cobertura Vegetal (M ²)	Cobertura de Césped (M ²)	Especies más abundantes
Parque Alfredo Kraus	40° 28' 15.2'' N 3° 38' 25.1'' O	38.580,36	17.138,56 (41,42%)	11.633,81 (30,15%)	<i>Acer negundo</i> <i>Platanus x hybrida</i> <i>Prunus cerasifera</i> <i>pisardii</i> <i>Pinus pinea</i> <i>Aeusc ulus hippocas- tanum</i> <i>Thuja plicata</i> <i>Cupressus semper- virens</i>
Parque de Berlín	40° 27' 1.5'' N 3° 40' 32.9'' O	49.116'02	23.846,96 (48,55%)	21.933,69 (44,65%)	<i>Aeusc ulus hippocas- tanum</i> <i>Platanus x hybrida</i> <i>Populus alba bolleana</i> <i>Prunus cerasifera</i> <i>pisardii</i> <i>Pinus pinea</i> <i>Cedrus atlantica</i> <i>Magnolia grandifolia</i>

3.1. Índice de alergenidad potencial

$$I_{UGZA} = \frac{1}{VPA_{max} \cdot S_T} \sum_{i=1}^k n_i \cdot ap_i \cdot pe_i \cdot ppp_i \cdot S_i \cdot H_i$$

Para estimar la alergenidad potencial de los parques considerados en este estudio, se ha utilizado el Índice de Alergenidad de Espacios Verdes Urbanos (I_{UGZA}), propuesto por Cariñanos *et al.* (2014). El índice proporciona un valor estandarizado entre 0 (nada alergénico) y 1 (altamente alergénico) y se sirve de características de cada especie como el VPA (valor potencial alergénico), duración del periodo de polinización, estrategia de polinización y superficie ocupada por cada especie, en base al diámetro de la copa y la altura máxima que pueda llegar a alcanzar en su periodo de madurez. Además, se considera la superficie total del parque (m²) y el número de individuos de cada especie, para lo cual es necesario realizar un completo inventario del parque. Datos del VPA para una gran

cantidad de especies de la Península Ibérica y Baleares puede consultarse en Cariñanos *et al.* (2016a). La fórmula para cada especie se expresa así:

El sumatorio de todos los índices de las especies presentes en el parque es el índice de alergenidad potencial, siendo 0,3 el valor mínimo para considerar el emplazamiento potencialmente alergénico.

4. RESULTADOS

Los datos del índice de alergenidad muestran que ambos parques se encuentran por encima del umbral de 0,3 considerado para ser potencialmente alergénico, siendo 0,57 para el parque de Berlín y 0,54 para el parque Alfredo Kraus (Figura 1).

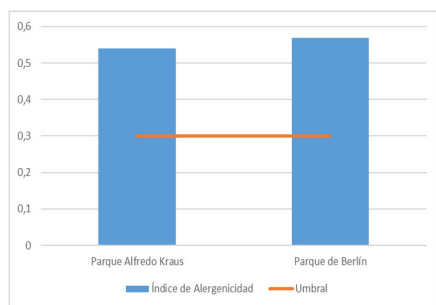


Figura 1. Valor del índice de alergenidad potencial de espacios verdes urbanos (I_{UGZA}) en los dos parques estudiados.

En el parque Alfredo Kraus, las especies que más han contribuido al índice, con un valor de representación superior al 10% respecto al total son: *Platanus x hybrida* (34%), *Calocedrus decurrens* (19%) y *Aesculus hippocastanum* (10%); en el parque de Berlín destacan *Platanus orientalis* (42%), *Aesculus hippocastanum* (22%) y *Cedrus atlantica* (19%) (Figura 2).

En los dos parques, las especies más representadas en cuanto a número de árboles son *Platanus* spp., *Aesculus hippocastanum*, *Thuja plicata*, *Ailanthus altissima*, *Liquidambar styraciflua*, *Populus alba* y *Acer negundo*, las cuales presentan un VPA bastante alto. Sin embargo, otras especies como *Magnolia grandifolia*, *Prunus cerasifera pisardii* y *Cedrus* spp. que contribuyen en gran medida al índice de alergenidad no tienen un VPA elevado, pero el número de individuos existentes en el parque es muy alto.

5. DISCUSIÓN

Tal como muestran los resultados, ambos parques superan el umbral para considerarlos potencialmente alergénicos. El mayor porcentaje de contribución al índice de alergenicidad lo acaparan especies cuya estrategia de polinización es anemófila, de duración superior a seis semanas, y que tienen gran incidencia alérgica sobre la población.

En el parque Alfredo Kraus están muy bien representadas especies de la familia de las Cupresáceas (*Thuja plicata*, *Thuja orientalis*, *Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizonica*, *Cupressocyparis leylandii* y *Calocedrus decurrens*) con polen altamente alergénico y con un periodo de presencia en el aire muy dilatado, convirtiéndolo en uno de los grupos que más contribuye al valor del índice. Mientras que en el parque de Berlín, destacamos la presencia de *Platanus orientalis* y *Aesculus hippocastanum*, especies que contribuyen en un 65% al valor total del índice.

El diseño de los parques también influye en la alergia que pueden causar en la población. El parque Alfredo Kraus presenta más densidad arbórea en la zona oeste y el parque de Berlín en la suroeste (donde se sitúa un pequeño bosque de *Pinus pinea*). Ambas zonas podrían ser focos de emisión alta de polen por proximidad. Además, la existencia de una gran superficie ocupada por césped en el parque de Berlín (92% de la superficie total vegetada) hace que pueda incrementar el valor del índice ya que es una fuente muy importante de polen alérgico.

No hay que olvidar que el arbolado de las calles aledañas, así, como los contaminantes producidos por el tráfico de las mismas,

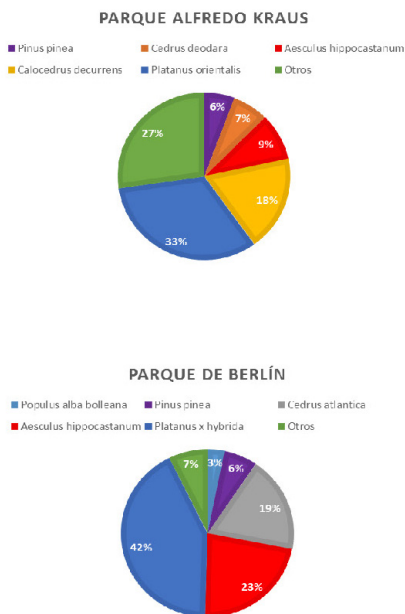


Figura 2. Contribución de las especies arbóreas que más contribuyen al índice de alergenicidad potencial de espacios verdes urbanos (I_{UGZA}) en los dos parques estudiados.

pueden agravar los procesos alérgicos. En el parque de Berlín hay que tener en cuenta lo 76 árboles de las calles aledañas y, que dos de ellas, son altamente transitadas.

Por último, en otras zonas verdes de ciudades españolas, también se ha cálculo del índice de alergenicidad potencial, obteniéndose valores que oscilan entre un mínimo de 0,07 del parque de los Pinos en Plasencia y un máximo de 0,87 en el parque Alamedilla en Salamanca (Cariñanos *et al.* 2016b).

6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo han permitido conocer el potencial alergénico de los dos parques estudiados e identificar las especies que más contribuyen a aumentar el valor de este índice. Esto podría ayudar a las personas que padecen polinosis a evitar estos lugares en épocas de polinización.

Se deberían plantear medidas de actuación para el diseño de nuevos parques que disminuyan el impacto negativo sobre las personas alérgicas, como plantación de especies menos alergénicas, entomófilas o de ejemplares femeninos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dpto. de Control de Calidad de Zonas Verdes, Parques y Viveros del Ayuntamiento de Madrid, la concesión de diferentes datos sobre los parques seleccionados, necesarios para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Cariñanos, P., Casares-Porcel, M., Quesada-Rubio, J.M. 2014. Estimating the allergenic potential of urban green spaces: A case-study in Granada, Spain. *Landscape Urban Plan.* 123: 134-44.
- Cariñanos, P. *et al.* 2016a. Characterization of Allergen Emission Sources in Urban Areas. *J. Enviro. Qual.*, 45: 244-52.
- Cariñanos, P. *et al.* 2016b. Salud Ambiental de los parques españoles: Aproximación al potencial alergénico de espacios verdes urbanos. *Rev. Salud Ambient.* 16(1): 33-42
- Chenoweth, R.E. & Gobster, P.H. 1990. The nature and ecology of aesthetic experiences in the lanscape. *Landscape J.* 9: 1-18.

Estudio morfométrico de la aplicación local de IGF-I en un modelo animal de osteoporosis

Morphometric study of the local application of IGF-I in an osteoporosis animal model

BAOLUO GAO; PAULA GONZÁLEZ MARTÍNEZ,
PAULA CIDAD PINTO; ENRIQUE ISASI CASTILLÓN Y
MÓNICA MONTIEL BAUTISTA,
Facultad de Odontología UCM
Tutores: Juan López-Quiles e
Isabel Fernández-Tresguerres Hernández-Gil
pablogaomadrid@hotmail.com

Resumen: Introducción: El factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I) es un péptido que actúa como regenerador sistémico y local del crecimiento del esqueleto. Se ha comprobado que la administración sistémica de IGF-I aumenta la densidad mineral ósea (DMO) en mujeres con anorexia nerviosa. El objetivo de este estudio fue el de valorar si la aplicación local de IGF-I tiene algún efecto en el proceso de osteointegración (OI), en animales osteoporóticos y no osteoporóticos.

Material y método: 16 conejas albinas de la raza Nueva Zelanda se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos: a un primer grupo se le provocó la osteoporosis mediante ovariectomía y dieta hipocálcica (OVX) (8) y un segundo grupo se sometió a una falsa ovariectomía pero recibió dieta estándar (SANOS)(8). A los 16 conejos se les colocaron un total de 32 implantes osteointegrados (IOI) uno en cada tibia y justo antes de la colocación, se aplicaron 4µg de IGF-I de forma local a la mitad de los animales. Éstos se sacrificaron a las 2 semanas de la cirugía y se procesaron las muestras para ser observadas al microscopio óptico. Mediante el analizador de imagen MIP-45 se midió el Bone-to-implant-contact (BIC) o porcentaje de osteointegración.

Resultados: La administración de 4µg de IGF-I no produjo diferencias estadísticamente significativas en los valores del BIC a las 2 semanas, ni en animales osteoporóticos ni en animales sanos.

Conclusiones: Dentro de las limitaciones de este estudio experimental, la administración de 4µg de IGF-I de forma local no induce cambios en la osteointegración (OI) en el modelo animal osteoporótico ni en el no osteoporótico.

Palabras clave: factor de crecimiento insulínico tipo I; Osteointegración; modelo animal; osteoporosis

Abstract: Introduction: Insulin-like growth factor 1 (IGF-I) is a peptide that acts as a systemic and local regenerator of skeletal growth. The systemic administration of IGF-I has been shown to increase BMD in women with anorexia nervosa. However, IGF-I has never been used locally to improve osseointegration in osteoporotic rabbits. The objective of this study was to assess whether the local application of IGF-I has any effect on the process of osseointegration (OI).

Materials and methods: 16 albino rabbits of the New Zealand breed were randomly distributed into two groups: a first group with induced osteoporosis (OVX) (8) and a second group of healthy rabbits (SANOS) (8). The 16 animals were placed a total of 32 osseointegrated implants (IOI) one in each tibia. Half of the animals were given 4µg of IGF-I locally just before IOI placement. The animals were sacrificed 2 weeks after surgery and the samples were processed to be observed under an optical microscope. The area of the implant, perimeter of the implant, and Bone-to-implant-contact (BIC) were the parameters evaluated in the morphometric study.

Results: The administration of 4µg of IGF-I did not produce statistically significant BIC values at 2 weeks neither in osteoporotic animals nor in non-osteoporotic animals.

Conclusions: Within the limitations of this experimental study, the administration of 4µg of IGF-I locally does not induce changes in osseointegration (OI) in the osteoporotic or non-osteoporotic animal model.

Keyword: Insulin-like growth factor 1; osseointegration; animal model; osteoporosis

1. INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una enfermedad sistémica esquelética caracterizada por una menor masa ósea que predispone a un aumento en el riesgo de fractura (NIH, 2001).

El hueso, es un tejido dinámico, en constante reabsorción y formación, en el que se produce una renovación anual del 5-15% del hueso total (Fernández-Tresguerres Hernández-Gil *et al*, 2006). Se puede considerar la colocación de un implante como una agresión al tejido óseo que va a desencadenar un proceso de regeneración. La cascada de remodelación va a estar desencadenada por una respuesta inflamatoria, hematoma, y la liberación de interleuquinas y factores de crecimiento.

El IGF-I es un péptido pequeño, de estructura similar a la insulina y es el factor de crecimiento más abundante en el hueso. Su primera fuente de secreción es el hígado donde su síntesis depende principalmente de la secreción de la hormona de crecimiento (GH)

y del estado nutricional (Gazzerro y Canalis, 2006).

Estudios en animales relacionan la presencia de IGF-I con el mantenimiento de la masa ósea. Se sabe que el IGF-I circulante contribuye a la masa cortical, mientras que el IGF-I local participa en la integridad del hueso esponjoso confirmando que es un factor importante en el remodelado óseo (Zhao *et al*, 2000). También se relacionan bajos niveles de IGF-I sérico con una disminución de la masa ósea en ratas, que se recupera con la administración de dosis bajas de IGF-I durante solo tres semanas (Cemborain *et al*, 2000).

Los estudios en humanos para definir los efectos de IGF-I en el recambio óseo son limitados. Dentro de las utilidades terapéuticas de la IGF-I, además de su uso en la osteoporosis, se han realizado ensayos clínicos con el fin de evaluar la posible eficacia de IGF-I recombinante en patologías como enanismo por insensibilidad a la GH (Backeljauw y Underwood, 1996) (Carel *et al* 1996) y diabetes mellitus I y II (Savage y Dunger, 1996).

Al igual que se sabe que la GH tiene un efecto paracrino a nivel óseo además de endocrino, se desconoce si su mediador IGF-I aplicado localmente podría tener un efecto beneficioso sobre el hueso. Hasta ahora no se ha empleado de forma local para mejorar la osteointegración en conejas osteoporóticas, por ello, el objetivo de este estudio fue el de evaluar si la aplicación local de IGF-I tiene algún efecto sobre el proceso de osteointegración.

2. MATERIAL Y MÉTODO

En el presente estudio, se utilizaron un total de 16 conejas albinas de la raza Nueva Zelanda (*Oryctolagus cuniculus*) de seis meses de edad a los que se colocó un total de 32 implantes, uno en cada tibia. Los animales proceden del animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) y el estudio fue aprobado por el Comité Local de Ética para el Uso de Animales de la UCM y de la CAM.

2.1. Colocación de los implantes

Un total de 16 conejas, se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos: un primer grupo con osteoporosis inducida mediante ovariectomía y dieta hipocálcica (OVX) (8), y un segundo grupo al que se realizó una falsa ovariectomía y no se privó de calcio, recibiendo una alimentación estándar (SANOS) (8). Bajo anestesia general, los implantes de titanio monocorticales se colocaron en la parte proxi-

mal de la cara anterior de la tibia, un centímetro por debajo de la tuberosidad tibial anterior, en su cara medial. Se colocó un implante en la tibia izquierda y otro en la tibia derecha de cada animal. A seis de los animales (tres SANOS y tres OVX), se les colocaron los implantes sin ninguna sustancia adicional y se consideraron grupo control. A otros diez animales (cinco SANOS y cinco OVX) se les colocaron los implantes introduciendo previamente en el lecho quirúrgico 4µg de IGF-I (GroPep Limited. Thebarton. Australia).

2.2. *Estudio histomorfométrico*

Se utilizó el sistema avanzado integral de análisis de imágenes MIP-45. Para medir la superficie de hueso en contacto directo con el implante o BIC (bone-to implant contact). Una vez realizadas todas las mediciones para las distintas preparaciones de cada tibia, se realizó una media aritmética con todos los valores de BIC obtenidos y se obtuvo un BIC medio para cada tibia.

2.3. *Tratamiento estadístico de los datos:*

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa informático SPSS 22.0. Se aplicó un análisis de la varianza para dos factores tomando como variable dependiente el valor del BIC y como factores la OVX y el IGF-I. Se aplicó la prueba T-Student de muestras pareadas para comparar los resultados de la tibia derecha e izquierda. Se consideraron como valores estadísticamente significativos aquellos cuya significación tuviese un valor de $p < 0.05$. Se estudió la influencia de los factores IGF-I y OVX en los valores de BIC.

3. RESULTADOS

3.1. *Análisis morfológico*

Se aplicó el test de Shapiro Wilk para verificar que la muestra cumplía con los criterios de normalidad y posteriormente se realizó la prueba T-Student para muestras pareadas. Así se compararon los resultados de las tibia derecha e izquierda no observándose resultados estadísticamente significativos, por lo que para el resto de las valoraciones se usaron conjuntamente.

Los resultados mostraron que el factor de la ovariectomía tiene influencia sobre el BIC aunque no de manera estadísticamente

significativa ($p=0.094$) y que el efecto del factor IGF-I y la interacción entre ambos factores no son estadísticamente significativos sobre el BIC con un valor de $p=0.454$.

Dentro del análisis estadístico descriptivo, se observan valores menores de BIC y por tanto menor osteointegración en el grupo de animales OVX que en el grupo de animales SANOS. Asimismo, en ambos grupos se aprecian valores de BIC más altos en ausencia de factor de crecimiento, especialmente en el caso de animales no ovariectomizados en los que la presencia de IGF-I da lugar a valores de BIC más bajos.

Se realizó el test T-Student para la comparación de dos medias: manteniendo fijo el factor de la ovariectomía, los resultados muestran que en el caso del análisis en animales sanos el valor de BIC disminuía con la aplicación de IGF-I aunque sin obtener valores estadísticamente significativos ($p=0.07$). En animales ovariectomizados, la aplicación de factor de crecimiento parece no modificar la osteointegración, obteniéndose valores de BIC similares en presencia o ausencia de IGF-I con un valor de $p>0.05$. Si el factor fijado es la aplicación del factor de crecimiento IGF-I, los datos parecen indicar que la aplicación local en el lecho quirúrgico de $4\mu\text{g}$ de IGF-I tampoco presenta cambios estadísticamente significativos en la osteointegración de los implantes en animales SANOS ($P=0.460$) frente a los OVX ($P=0.126$).

4. DISCUSIÓN

Este trabajo ha sido el primero en estudiar la influencia de la aplicación local de IGF-I en la osteointegración en conejas osteoporóticas. Recientemente, En 2017 existe un estudio en el que se evaluó la influencia del IGF-I en un preparado por capas en la superficie de los implantes sobre ratas osteoporóticas como modelo animal (Xing *et al*, 2017). Observaron que la aplicación de IGF-I podría promover la osteointegración en condiciones de osteoporosis *in vivo* e *in vitro* ya que la aplicación local de IGF-I parece promover la adhesión temprana de células madre mesenquimales de médula ósea así como su diferenciación.

Nuestro grupo fue el primero en demostrar el efecto de la GH aplicada de forma local sobre el hueso de un animal de experimentación, tanto con osteoporosis (Tresguerres *et al*, 2002) como sin osteoporosis (Tresguerres *et al*, 2003) (Tresguerres *et al*, 2005),

obteniendo una mejora de la osteogénesis peri-implantaria y del BIC a los 15 días de la colocación de los implantes.

Teniendo en cuenta que IGF-I es el mediador de la GH, cabe pensar que la administración local de IGF-I podría tener un efecto parecido al de la hormona. Sin embargo, la administración local de 4µg de IGF-I no indujo cambios en el BIC en animales OVX, lo que hace pensar que tal vez la dosis de 4µg sea muy pequeña comparado con las 4IU de GH (lo que equivaldría a 1.2mg de IGF-I).

Respecto a los animales sin osteoporosis, la aplicación de IGF-I disminuyó los valores del BIC, aunque no de manera estadísticamente significativa.

5. CONCLUSIONES

La administración local de 4µg de IGF-I no induce cambios histológicos en el hueso.

La administración local de 4µg de IGF-I en el lecho quirúrgico inmediatamente antes de la colocación del implante no parece mejorar los valores de BIC en el modelo animal con osteoporosis inducida, ni en los animales sanos.

Teniendo en cuenta las limitaciones del presente estudio y en vista de los resultados obtenidos, puede afirmarse que la administración local de 4µg de IGF-I no parece influir en la osteointegración de los implantes en el modelo animal no osteoporótico ni osteoporótico.

BIBLIOGRAFÍA

- Backeljauw PF, Underwood LE. 1996. Prolonged treatment with recombinant insulin-like growth factor-I in children with growth hormone insensitivity syndrome--a clinical research center study. GHIS Collaborative Group. *J Clin Endocrinol Metab.* 81(9):3312-7.
- Carel JC, Chaussain JL, Chatelain P, Savage MO. 1996. Growth hormone insensitivity syndrome (Laron syndrome): main characteristics and effects of IGF-I treatment. *Diabetes Metab.* 22(4):251-6.
- Cemborain A, Castilla Cortázar I, García M, Muguersa B, Delgado G, Díaz Sánchez M, *et al.* 2000. Effects of IGF-I treatment on osteopenia in rats with advanced liver cirrosis. *Journal of Physiology and Biochemistry.* 56(2):91E9.
- Fernández-Tresguerres Hernández-Gil IF, Alobera Gracia MA, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L. 2006. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 11: E47-51.

- Gazzerro E, Canalis E. 2006. Skeletal actions of insulin-like growth factors. *Expert Rev Endocrinol Metab.* 1:47-56.
- NIH 2001. Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis: prevention, diagnosis and treatment. *JAMA.* 285:785-95.
- Savage MO, Dunger DB. 1996. Recombinant IGF-I therapy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* 22(4):257-60.
- Tresguerres IF, Clemente C, Donado M, Gómez-Pellico L, Blanco L, Alobera MA, Tresguerres JA. 2002. Local administration of growth hormone enhances periimplant bone reaction in an osteoporotic rabbit model. *Clin Oral Implants Res.* 13(6):631-6.
- Tresguerres IF, Blanco L, Clemente C, Tresguerres JA. 2003. Effects of local administration of growth hormone in peri-implant bone: an experimental study with implants in rabbit tibiae. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 18(6):807-11
- Tresguerres IF, Alobera MA, Baca R, Tresguerres JA. 2005. Histologic, morphometric, and densitometric study of peri-implant bone in rabbits with local administration of growth hormone. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 20(2):193-202.
- Xing H, Wang X, Xiao S, Zhang G, Li M, Wang P, Shi Q, Qiao P, E L, Liu H. 2017. Osseointegration of layer-by-layer polyelectrolyte multilayers loaded with IGF1 and coated on titanium implant under osteoporotic condition. *Int J Nanomedicine.* 12:7709-7720. doi: 10.2147/IJN.S148001. eCollection 2017.
- Zhao G, Monier-Faugere MC, Langub MC, Geng Z, Nakayama T, Pike JW, Chernausek SD, Rosen CJ, Donahue LR, Malluche HH, Fagin JA, Clemens TL. 2000. Targeted overexpression of insulin-like growth factor I to osteoblasts of transgenic mice: increased trabecular bone volume without increased osteoblast proliferation. *Endocrinology.* 141(7):2674-82.

Vides sanas para la salud

Healthy vines for health

MARINA GARCÍA COMPANYS

Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid
Tutores: Sergio Astudillo Calderón, Aránzazu Gómez Garay
maring17@ucm.es

Resumen: Las enfermedades de las plantas, entre ellas, las producidas por hongos fitopatógenos, resultan dañinas para los productos vegetales de los que nos alimentamos y, en definitiva, para la salud humana. Los métodos tradicionales de control de los hongos fitopatógenos basados en agroquímicos resultan altamente contaminantes y perjudiciales para nuestra salud. Por ello, en los últimos años se han desarrollado alternativas entre las que se encuentra el control biológico mediante organismos antagonistas. El presente estudio se centra en el uso de hongos endófitos para controlar las enfermedades producidas por hongos fitopatógenos de madera de vid (*Vitis vinifera*), uno de los cultivos con más importancia económica a nivel global. En concreto, se ha escogido el hongo *Penicillium chrysogenum*, debido a que es un endófito de la vid y a su conocida capacidad antimicrobiana, para estudiar su potencial antagonístico frente al hongo fitopatógeno de madera de vid *Diplodia seriata*.

Palabras clave: Vid, Biocontrol, *Penicillium chrysogenum*, *Diplodia seriata*.

Abstract: Plant diseases, among which are those produced by phytopathogenic fungi, are prejudicial to the plant products that we feed on and, ultimately, to human health. The traditional methods of control of phytopathogenic fungi based on agrochemicals are highly polluting and harmful to our health. Because of this, alternatives have been developed in recent years, including biological control through antagonistic organisms. The present study focuses on the use of endophytic fungi to control the diseases caused by phytopathogenic fungi of vine wood (*Vitis vinifera*), one of the most economically important crops in the world. Specifically, the fungus *Penicillium chrysogenum* has been chosen because it is an endophyte of the vine and its antimicrobial capacity has been described, to study its antagonistic potential against the phytopathogenic fungus of vine wood, *Diplodia seriata*.

Keywords: Vine, Biocontrol, *Penicillium chrysogenum*, *Diplodia seriata*.

1. INTRODUCCIÓN

La salud humana está estrechamente relacionada con la de animales y vegetales. Cuando hablamos del impacto de las enfermedades de los vegetales en la salud humana son dos los aspectos que se deben considerar: el evidente impacto que provocan en nuestra alimentación, debido a la disponibilidad de alimentos, y el segundo de ellos es el papel que algunos fitopatógenos ejercen directamente sobre nuestra salud. Aunque son escasas las referencias al respecto, existe un estudio que indica que el virus del moteado del pimiento (*Pepper mild mottle virus*, PMMV) puede reaccionar con el sistema inmune de los seres humanos e inducir un síntoma clínico; (Colson *et al.*, 2010) y un hongo implicado en las enfermedades de madera de vid, *Phaeoacremonium inflatipes* es un patógeno oportunista que afecta al tejido óseo de pacientes con inmunidad alterada (Wang *et al.*, 2005). Son más numerosos los trabajos que señalan los daños que pueden inducir las toxinas producidas por algunas especies de los géneros *Aspergillus*, *Alternaria* y *Penicillium* y que provocan desde reacciones alérgicas a distintos tipos de cáncer.

La base de estos efectos sobre nuestra salud se encuentra por lo tanto en la salud de las plantas. Cómo lograr esta con los actuales conocimientos científico-técnicos es uno de los retos a los que la sociedad se enfrenta. El uso indiscriminado de sustancias químicas ha originado problemas no sólo medioambientales y de generación de resistencias en los propios patógenos, sino que también ha supuesto un riesgo para la salud. La Humanidad no puede prescindir de la agricultura, y para que esta sea sostenible es necesaria mantener la salud de las plantas, lo que se podría conseguir con gran eficacia, seguridad para el hombre y respeto al medio ambiente si se considerase una Medicina Vegetal con el mismo rigor científico y tecnológico con el que están estructuradas la Medicina Humana y la Medicina Animal o Veterinaria (del Moral, 2017).

Entre las corrientes internacionales para lograr una alternativa al uso de fitoquímicos se propone, con cierta intensidad en los últimos años, el uso del biocontrol (utilizar unos organismos, “los antagonistas”, para controlar a otros, “los patógenos”). Es en este campo en el que se centra el presente trabajo, basado en un cultivo fundamental para la economía agrícola española que además es fuente de metabolitos de interés para las industrias alimentaria y farmacéutica, el viñedo.

La vid es susceptible a un mayor número de patógenos que cualquier otra especie leñosa (Martelli, 1997). Entre las enfermedades que sufre destacan las fúngicas (más de 29 enfermedades diferentes se atribuyen a estos fitopatógenos, Wilcox *et al.*, 2015) y, entre estas, destacan las enfermedades de madera de vid (*grapevine trunk diseases*, GTDs) por ser de las más destructivas (Berstch *et al.*, 2013). Las GTDs incluyen enfermedades con diversos síntomas que se observan en las hojas y la madera de las vides afectadas y que, se cree, se deben a hongos fitopatógenos que afectan a la planta a través de una infección que se inicia en las heridas de poda y que después coloniza los tejidos vasculares. *Diplodia seriata* pertenece a este grupo, provocando una reducción en el crecimiento de primavera de las viñas, la muerte de tallos y yemas y la necrosis en el xilema (Figura 1).

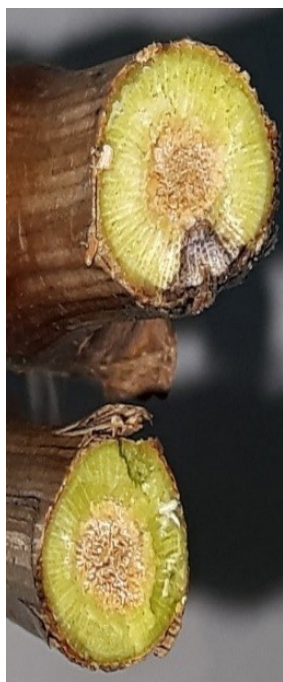


Figura 1. Madera de planta de cinco años de la variedad *Syrah* con lesión producida por *D. seriata* (izquierda) y madera sana (derecha).

El microbioma de las plantas ha sido uno de los determinantes clave de la salud y productividad vegetal durante más de un siglo. Las especies microbianas contribuyen en múltiples aspectos de la vida de las plantas, incluyendo funciones esenciales como pueden ser el suministro de nutrientes, la resistencia ante factores de estrés, ya sea bióticos o abióticos, y la producción de metabolitos bioactivos (Berg *et al.*, 2017). A partir de tejido sano en una zona de vides enfermas se ha aislado el hongo *Penicillium chrysogenum*, y se ha seleccionado como organismo antagonista en biocontrol.

Los antagonistas presentan distintas estrategias y mecanismos, gracias a los cuales son capaces de controlar el crecimiento y reproducción de los hongos fitopatógenos. Algunos de estos mecanismos son la competencia por el espacio y/o los nutrientes, interacciones directas sobre el patógeno mediante micoparasitismo y mecanismos basados en la antibiosis mediante la liberación de compuestos volátiles y no volátiles. Además, pueden presentar otros mecanismos con los cuales ejercer su papel como antagonista como favorecer la solubilización y

la absorción de nutrientes inorgánicos, la estimulación del crecimiento vegetal o la inducción de resistencias.

2. COMPETENCIA POR ESPACIO Y NUTRIENTES

Penicillium chrysogenum presenta una elevada heterogeneidad entre cepas en su tamaño, tasa de crecimiento y capacidad de esporulación (Grubenger *et al.*, 2017). En concreto, el aislado de *P. chrysogenum* obtenido de vid presenta una baja tasa de crecimiento que hace que en ensayos *in vitro* de enfrentamiento dual en placa se observe que los patógenos son capaces de crecer hasta un 50% más en el mismo tiempo que si se tratase de un enfrentamiento patógeno-patógeno. Sin embargo, se produce un halo de inhibición del crecimiento de *D. seriata* en la proximidad de *P. chrysogenum* (Figura 2a) que evoluciona hacia el crecimiento de este último sobre el patógeno llegando incluso a esporular (Figura 2b). Este crecimiento y esporulación sobre el patógeno supone un grado de antagonismo máximo, grado 4 (Ezziyyani *et al.*, 2004).

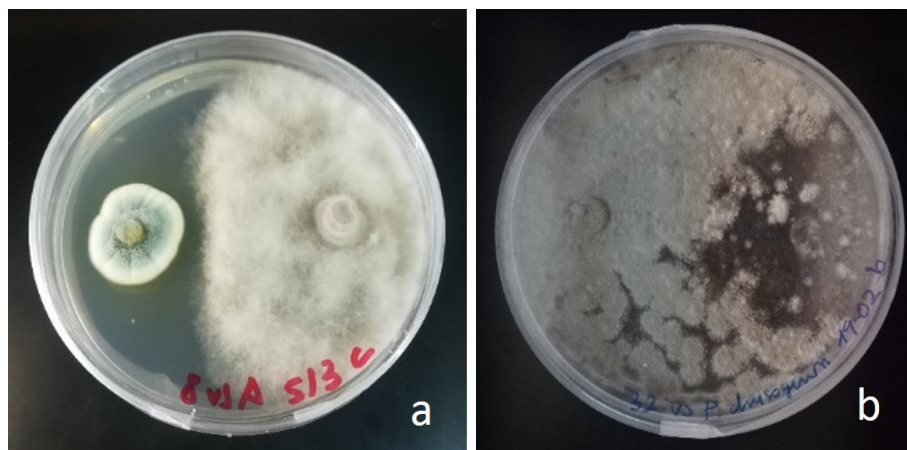


Figura 2. Ensayo de enfrentamiento dual en placa de *P. chrysogenum* y *D. seriata*. a) En la parte izquierda *P. chrysogenum* y en la parte derecha *D. seriata* a los cuatro días post-siembra en medio PDA. b) *P. chrysogenum* (de color más claro) crece y esporula sobre *D. seriata* a los ocho días postsiembra.

3. MICOPARASITISMO

P. chrysogenum se puede considerar micoparásito (Jeffries & Young, 1994). El micoparasitismo se refiere a la capacidad del hongo para obtener nutrientes del micelio de otra especie, una condición que es difícil de demostrar *in vitro* a menos que se observen las interacciones entre las hifas de ambas especies. La definición de micoparasitismo necrotrófico *sensu* Barnett y Binder (1973) es más apropiada para describir esta relación mediada por metabolitos tóxicos.

4. PRODUCCIÓN DE METABOLITOS TÓXICOS

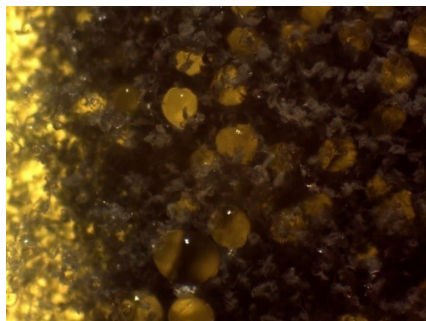


Figura 3. *P. chrysogenum* creciendo sobre PDA. Se pueden observar los materiales secretados por el hongo de color amarillo.

Tanto el halo de inhibición de crecimiento de *D. seriata* como el micoparasitismo necrotrófico se deben a la existencia de otros mecanismos de acción como la liberación de compuestos con capacidad antibiótica (Figura 3). La existencia de estos compuestos ya ha sido comprobada en estudios anteriores en los que se muestra la producción de compuestos como la crisogina (Viggiano *et al.*, 2018) y la sorbicilina (Guzmán-Chávez *et al.*, 2017). El pigmento crisogina se ha comprobado que no presenta capacidad antibiótica, sin embargo, sí se ha comprobado esta capacidad en la sorbicilina.

5. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Los endófitos fúngicos tienen la capacidad de producir numerosas enzimas extracelulares (Figura 4a). Estas enzimas fúngicas desempeñan un papel clave en los procesos de biodegradación e hidrólisis, que son mecanismos significativamente importantes contra la infección patógena y para obtener su necesidad nutricional de las plantas hospedantes (Sunitha *et al.*, 2013). *P. chrysogenum* presenta diferentes enzimas hidrolíticas como pueden ser celulasas, ligno-

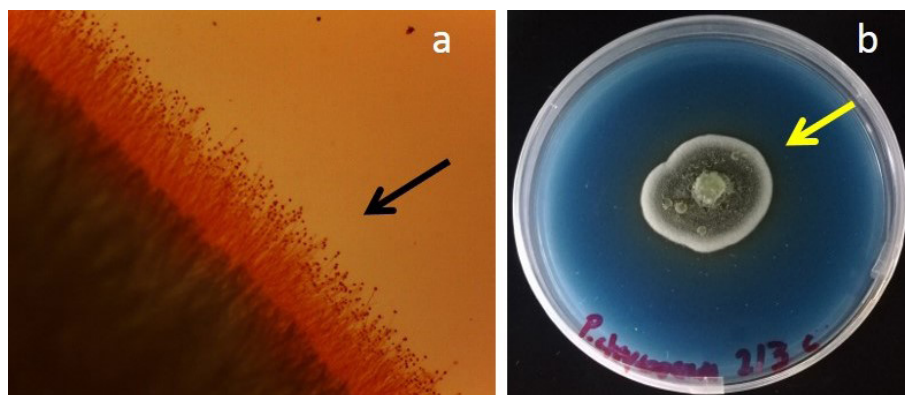


Figura 4 a) Crecimiento de *P. chrysogenum* sobre medio con xilano y tinción con Rojo Congo. Se puede observar el halo de degradación de xilano (señalado con la flecha). b) *P. chrysogenum* en medio Pikovskaya para determinar la solubilización de fosfatos. Se puede observar el halo (señalado con la flecha).

celulosas (Nwodo-Chinedu *et al.*, 2005) y xilanasa (Okafor *et al.*, 2007), entre otras.

6. SOLUBILIZACIÓN DE FOSFATOS

El fósforo (P) es el segundo macronutriente mineral en importancia requerido para el crecimiento de la planta junto al nitrógeno. Los microorganismos juegan un papel crítico en el ciclo natural de P, y el uso de microorganismos solubilizadores de fosfato (PSM) es fundamental en la disponibilidad de este elemento para las plantas. Los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* se encuentran entre los solubilizadores de fosfato más potentes. La valoración de solubilización de fosfatos se puede realizar mediante el crecimiento en medio Pikovskaya con una fuente insoluble de fosfatos y un indicador de pH (Figura 4b). *P. chrysogenum* presenta unos índices de solubilización (SI= diámetro de la colonia + diámetro del halo/diámetro de la colonia) que varían entre el 1.2 y el 2.4 (Elías *et al.*, 2016).

En resumen, el endófito obtenido de planta de vid *P. chrysogenum* puede considerarse un organismo de biocontrol para *D. seriata*. Sin embargo, no hay estudios suficientes sobre los efectos de los factores físicos en el crecimiento, la esporulación y la supervivencia

de los conidios y estos son esenciales antes de que este organismo pueda desarrollarse en un producto comercial. Además, los microorganismos pueden producir toxinas y antibióticos, por lo que es necesario realizar una evaluación de riesgos. La UE destaca no solo la importancia de la eficacia del producto fitosanitario, sino también la de la información sobre la seguridad para los cultivos y la salud humana (Directiva 165/2010/CE). Sólo con esta aproximación del uso del producto de biocontrol como si de un “medicamento” se tratase y la formación y preparación de los técnicos responsables de su uso se puede alcanzar un uso responsable de estos productos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado dentro del proyecto RTA2015-00015-C02-02.

BIBLIOGRAFÍA

- Barnett HL., Binder FL. 1973. The fungal host-parasite relationship. *Ann. Rev. of Phytopathol.* 11: 273–292.
- Berg, G., Köberl, M., Rybakova, D., Müller, H., Grosch, R. & Smalla, K. 2017. Plant microbial diversity is suggested as the key to future biocontrol and health trends. *FEMS microbiology ecology*. 93(5): 1-24.
- Bertsch, C., Ramirez-Suero, M., Magnin-Robert, M., Larignon, P., Chong, J., Abou-Mansour, E., Spagnolo, A., Clement, C., and Fontaine, F. 2013. Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathol.* 62:243-265.
- Chinedu, S. N., Okochi, V. I., Smith, H. A. & Omidiji, O. 2005. Isolation of cellulolytic microfungi involved in wood-waste decomposition: Prospects for enzymatic hydrolysis of cellulosic wastes. *International Journal of Biomedical and Health Sciences*. 1(2): 41-51.
- Colson P, Richet H, Desnues C, Balique F, Moal V, Grob JJ, Berbis P, Lecoq H, Harlé JR, Berland Y, Raoult D. 2010. Pepper mild mottle virus, a plant virus associated with specific immune responses, fever, abdominal pains, and pruritus in humans. *PLoS One*. 5:1–12.
- Del Moral, J. 2017. *Máster en Sanidad Vegetal*. Universidad de Sevilla.
- Elias, F., Woyessa, D. & Muleta, D. 2016. Phosphate solubilization potential of rhizosphere fungi isolated from plants in Jimma Zone, South-west Ethiopia. *International Journal of Microbiology*. 3:1-11.
- Ezziyyani. M *et al.*, 2004; *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). *Anales de Biología*. 26: 35-45.
- Grünberger, A., Schöler, K., Probst, C., Kornfeld, G., Hardiman, T.,

- Wiechert, W. & Noack, S. 2017. Real-time monitoring of fungal growth and morphogenesis at single-cell resolution. *Engineering in Life Sciences*. 17(1): 86-92.
- Guzmán-Chávez, F., Salo, O., Nygård, Y., Lankhorst, P. P., Bovenberg, R. A. & Driessen, A. J. 2017. Mechanism and regulation of sorbicillin biosynthesis by *Penicillium chrysogenum*. *Microbial biotechnology*, 10(4): 958-968.
- Jeffries, P., Young, T.W.K. 1994. *Interfungal parasitic relationship*. CAB International, Oxon, pp 9–12.
- Martelli, G. P. 1997. Infectious diseases and certification of grapevine. *Options Mediterr. Ser. B*. 29:47-64.
- Okafor, U. A., Emezue, N. T., Okochi, V. I., Onyegeme-Okerenta, B. M. & Chinedu, S. N. 2007. Xylanase production by *Penicillium chrysogenum* (PCL501) fermented on cellulosic wastes. *African Journal of Biochemistry Research*. 1(4):48-53.
- Shu-Chien Wang, Po-Ren Hsueh, Shwu-Jen Liaw, Luan-Yin Chang, Chun-Yi Lu, Shiann-Tarng Jou, Li-Min Huang. 2005. Fatal Fungemia Due to *Phaeoacremonium inflatipes* in a Child with Severe Aplastic Anemia, *Clinical Infectious Diseases*. 40(7): 1067–1068.
- V.H. Sunitha, D. Nirmala Devi, C. Srinivas. 2013. Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World J. Agric. Sci*. 9(1):1-9.
- Viggiano, A., Salo, O., Ali, H., Szymanski, W., Lankhorst, P. P., Nygård, Y. & Driessen, A. J. 2018. Pathway for the Biosynthesis of the Pigment Chrysogine by *Penicillium chrysogenum*. *Applied and environmental microbiology*. 84(4), e02246-17.
- Wilcox, W. F., Gubler, W. D., Uyemoto, J. K. 2015. *Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests*, 2nd ed. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.

Diclofenaco en rapaces: antiinflamatorio mortal

Diclofenac in scavengers: mortal anti-inflammatory

BELÉN GARRIDO SÁNCHEZ Y NATALIA CARBALLO MARQUÉS
Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid
 begarrid@ucm.es, ncarball@ucm.es

Resumen: En Asia se produjo un aumento significativo de la mortalidad de buitres causado por residuos de diclofenaco, antiinflamatorio no esteroideo (AINE) utilizado en ungulados cuyas canales eran accesibles a la fauna salvaje. La autorización en España de dos especialidades farmacéuticas que contienen este principio activo ha creado gran controversia por ser una de las principales reservas de buitres de Europa. La extremada sensibilidad del género *Gyps* a la toxicidad del diclofenaco, junto con la comercialización de las dos especialidades farmacéuticas en las que aparece como principio activo, nos ha llevado a realizar una revisión sobre qué es lo que genera una intoxicación en las aves y cuál podría ser el riesgo en el escenario europeo. En las aves carroñeras del género *Gyps* el diclofenaco es causante de insuficiencia renal aguda por necrosis de las células del túbulo contorneado proximal, impidiendo la excreción del ácido úrico, derivando en gota visceral grave y muerte. Los buitres son extremadamente sensibles ya que eliminan más lentamente ciertos fármacos y la dosis terapéutica recomendada en mamíferos es mortal en ellos.

Palabras claves: diclofenaco, muerte, buitres, meloxicam, insuficiencia renal.

Abstract: In Asia, there was a significant increase in the mortality of vultures, caused by residues of diclofenac, non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) used in ungulates whose carcasses were available to wildlife as food. A great controversy has been generated in Spain, the largest reserve of vultures in Europe, due to the authorization of two pharmaceutical specialties that includes this active ingredient. The extreme sensitivity of the *Gyps* genus to the toxicity of diclofenac, and the commercialization of two specialties that contain this active ingredient, has led us to review what is causing intoxication in birds and what could be the risk in the european scene. Diclofenac is specially toxic for scavengers birds from *Gyps* genus, cause of acute renal failure because of cell necrosis

of the proximal contournal tube, obstructing the excretion of uric acid, causing serious visceral gout and death. Vultures are extremely sensitive animals as they eliminate certain drugs more slowly, that is why therapeutic dose for treated species is mortal for them.

Key words: diclofenac, death, vultures, meloxicam, renal failure.

1. INTRODUCCIÓN

Entre 1992 y 2007, se produjo un aumento significativo de la mortalidad anual de buitres en torno a un 99,9% en el sur de Asia, llevando al borde de la extinción cerca de 3 especies de buitres del género *Gyps* (Zorrilla *et al.* 2015) estando asociado a insuficiencia renal aguda y gota visceral, derivado de la presencia de residuos medicamentosos de diclofenaco. Este fármaco, ampliamente usado en medicina veterinaria en el sur de Asia, se administra a ungulados en forma de bolo como analgésico, antipirético y antiinflamatorio debido a su bajo coste (Oaks *et al.* 2004). Las carroñeras llegan a estos residuos a partir de la ingesta de las canales que son dejadas al aire libre.

La extremada sensibilidad del género *Gyps* a la toxicidad del diclofenaco, y la autorización y comercialización en recientes años de dos especialidades que contienen este principio activo, nos ha llevado a realizar una revisión sobre qué es lo que genera en las aves una intoxicación por el mismo y cuál podría ser el riesgo en el escenario europeo.

2. ¿QUÉ ES EL DICLOFENACO?

El diclofenaco es un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) con actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética, cuya acción principal es la inhibición de la enzima ciclooxigenasa COX I y COX II con relativa equipotencia. Actualmente se considera que presenta un mecanismo de acción multimodal (liberación y recaptación de ácido araquidónico, inhibición de enzimas lipoxigenasas y sustancia P... (Gan 2010)).

El diclofenaco presenta alta unión a proteínas plasmáticas, reducido volumen de distribución y metabolismo a nivel hepático. La alteración de la permeabilidad de las membranas producida por el proceso inflamatorio facilita el paso del diclofenaco al foco de la inflamación (Naidoo *et al.* 2008).

En mamíferos, sus reacciones adversas son lesiones ulcerativas y hemorrágicas a nivel gastrointestinal, insuficiencia renal y alteraciones hepáticas. Sin embargo, en aves es importante destacar la toxicidad renal (Naidoo *et al.* 2008).

3. ¿QUÉ EFECTOS TIENE EN LOS BUITRES?

La ingesta de ungulados tratados con este fármaco a dosis terapéuticas de 1 mg/Kg o 2.5 mg/Kg poco antes de su muerte, produce la muerte de las carroñeras, puesto que la DL₅₀ de diclofenaco estimada en buitres se encuentra entre 0.098-0.225 mg/Kg. Además, las concentraciones más altas de diclofenaco se encuentran en intestino, hígado y riñón, coincidiendo con los órganos más atrayentes para estas aves (Pain *et al.* 2008; Green *et al.* 2006).

Este fármaco provoca en los buitres gota visceral aguda a consecuencia de su nefrotoxicidad. En las carroñeras encontradas no estaban presentes la fibrosis y otros cambios que indicaban la presencia de insuficiencia renal crónica, lo que llevó a la conclusión de que la insuficiencia renal aguda tenía una causa tóxica.

Las células del túbulo contorneado proximal del riñón de las aves son la diana de los AINEs. De modo que, cuando el diclofenaco llega a ellas, se incrementan las especies reactivas de oxígeno y consecuentemente se produce un daño mitocondrial, con la sucesiva muerte celular. Al necrosarse las células del túbulo contorneado proximal, se produce hiperuricemia en ciertos tejidos del ave al interferir en la eliminación del fármaco, lo que desencadena una gota visceral aguda en menos de 24 horas que suele ser mortal (Oaks y Meteyer 2012; Naidoo y Swan 2009).

Además, se ha formulado la hipótesis de que la producción alterada de prostaglandinas E₂ e I₂ puede alterar el control del músculo liso de la válvula porta-renal y modificar la perfusión renal, favoreciendo la isquemia y necrosis de los túbulos proximales (Oaks *et al.* 2004).

Las especies más sensibles son las aves carroñeras pertenecientes a tres especies de buitres del género *Gyps* (*G. africanus*, *G. coprotheres* and *G. fulvus*). Sin embargo, aparentemente son más resistentes a dosis elevadas el aura gallipavo (*Cathartes aura*) y el cuervo pío (*Corvus albus*) (Rattner *et al.* 2008).

4. EL DICLOFENACO EN ESPAÑA

Debido a todos estos efectos, tras la autorización de este medicamento en España, se generó gran controversia por ser el país con más del 90% de la reserva de buitres de toda Europa y esto podría suponer un posible riesgo para los mismos (Zorrilla *et al.* 2015).

En España, las dos especialidades veterinarias con diclofenaco son Dolofenac y Diclovet, que se han comercializado solamente para su uso intramuscular en bovino, porcino y equino (no destinado a consumo cárnico). Los periodos de supresión no son mucho más ventajosos que los de otros AINEs, siendo en bovino 15 días en carne y 6 días en leche, y en porcino 12 días en carne. Sin embargo, en el caso del ketoprofeno no hay días de espera para la leche y en carne puede variar entre 1 y 6 días, pero este AINE no es tan eficaz como el diclofenaco, por lo que no suele usarse como alternativa. Además, se indica que no se debe administrar a animales susceptibles de entrar en la cadena alimentaria de la fauna salvaje (AEMPS, 2018).

En el año 2012 se encontró un cadáver de buitre leonado (*Gyps fulvus*) en la provincia de Córdoba con gota visceral grave aguda similar a las encontradas en los buitres de Asia intoxicados por diclofenaco, por lo que en un principio se pensó que ésta había sido la causa de la muerte. Tras el análisis de muestras de hígado y riñón en los cadáveres, se detectaron elevadas concentraciones de flunixin meglumine, siendo el primer caso descrito de muerte en buitres debido a la exposición ambiental a un AINE en España.

Una nueva investigación indica que el diclofenaco puede haber causado la muerte de dos águilas esteparias (*Aquila nipalensis*) en India en un vertedero de cadáveres de ganado. Por lo tanto, ahora hay inquietudes por especies como el águila-azor perdicera (*A. fasciata*), el águila real (*A. chrysaetos*) y el águila imperial ibérica (*A. adalberti*), que se aprovechan de forma oportunista de los cadáveres del ganado (Zorrilla *et al.* 2015).

5. ANÁLISIS DE OTROS AINEs Y POSIBLES ALTERNATIVAS AL USO DEL DICLOFENACO

Algunos AINEs de amplio uso en otras especies, como el ketoprofeno y flunixin, no pueden ser usados como alternativa. Se comprobó que la ingesta de canales de ganado que habían recibido una

dosis de 1 mg/kg o 5 mg/kg de ketoprofeno en las horas previas a la muerte, provocaba la muerte de 7 de cada 11 aves con signos típicos asociados previamente con toxicidad al diclofenaco (Rattner *et al.* 2008). En cuanto al flunixin podemos decir que en España está registrado para su uso en medicina equina, bovina y porcina. Sin embargo, no se conocen datos relevantes de monitoreo de residuos de canales (Zorrilla *et al.* 2015).

Un AINE que sí podría usarse como alternativa es el meloxicam. Se ha sugerido que la toxicidad o no toxicidad de los AINEs se relaciona con su aclaramiento, puesto que los fármacos con aclaramientos rápidos en buitres como el meloxicam, van a prevenir su acumulación y la toxicidad de los mismos, al contrario de lo que sucede con el diclofenaco que se elimina lentamente (Rattner *et al.* 2008).

Por último, mencionar el paracetamol, el cual es un inhibidor de la COX que parece no ser nefrolesivo en gallináceas y podría ser una nueva vía de estudio en buitres (Rattner *et al.* 2008).

Por todo esto, el meloxicam sigue siendo la mejor alternativa disponible que se acepta como terapéuticamente efectiva y aparentemente segura para una amplia gama de aves carroñeras. Su uso en animales de producción posiblemente reduciría el riesgo nefrotóxico por residuos medioambientales de muchos AINEs.

6. CONCLUSIÓN

Después de que el diclofenaco se estableciese como el principal causante de la disminución de buitres y se identificase un AINE seguro, el meloxicam, para los mismos, el fármaco se prohibió para uso veterinario en gran parte de Asia.

En España, el riesgo de exposición al diclofenaco es aparentemente menor por el tipo de presentación, la vía de administración que ha sido elegida, los aspectos culturales y las recomendaciones sobre la disposición de los cadáveres en los muladares. Sin embargo, se debe ser consciente, no solo de la alerta sobre los riesgos del diclofenaco, sino también de otros AINEs.

BIBLIOGRAFÍA

AEMPs: Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (2018). *Medicamentos veterinarios. CIMA Vét: Centro de Información online de Medicamentos Veterinarios de la AEMPS. Diclofenaco*. España, EU.

- <https://cimavet.aemps.es/cimavet/medicamentos.do> (acceso 20 febrero 2018)
- Gan, T.J. 2010. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. *Current medical research and opinion*. 26(7): 1715–31. doi: 10.1185/03007995.2010.486301.
- Green, R.E., M.A. Taggart, D. Das, D.J. Pain, C. Sashikumar, A.A. Cunningham, R. Cuthbert. 2006. Collapse of asian vulture populations: risk of mortality from residues of the veterinary drug diclofenac in carcasses of treated cattle. *Journal of applied Ecology*. 43: 949–56. doi:10.1017/S0030605311000135.
- Naidoo, V., L. Bekker, L. McGaw, M.A. Taggart, R. Cuthbert, G.E. Swan. 2008. The pharmacokinetics of meloxicam in vultures. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 31: 128–34. doi: 10.1111/j.1365-2885.2007.00923.
- Naidoo, V. y G.E. Swan. 2009. Diclofenac toxicity in Gyps vulture is associated with decreased uric acid excretion and not renal portal vasoconstriction. *Comparative biochemistry and physiology part C: toxicology & pharmacology*. 149:269–74. doi:10.1038/nature02317.
- Oaks, J.L. y C. Meteyer, 2012. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in raptors. *Fowler's zoo and wild animal medicine current therapy*, volume 7. Elsevier Inc. p. 349-55. doi: 10.1016/B978-1-4377-1986-4.00046-9.
- Oaks, J.L., M. Gilbert, M.Z. Virani, R.T. Watson, C.U. Meteyer, B.A. Rideout, H.L. Shivaprasad, S. Ahmed, M.J. Iqbal Chaudhry, A. M. Arshad, S. Mahmood, A. Ali, A. Ahmed Khan. 2004. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*. 427: 630–33. doi: 10.1038/nature02317.
- Pain, D.J., C.G.R. Bowden, A.A. Cunningham, R. Cuthbert, D. Das, M. Gilbert, R.D. Jakati, Y. Jhala, A.A. Khan, V. Naidoo, J.L. Oaks, J. Parry-Jones, V. Prakash, A. Rahmani, S.P. Ranade, H. Sagar Baral, K. Ram Senacha, S. Saravanan, N. Shah, G. Swan, D. Swarup, M.A. Taggart, R.T. Watson, M.Z. Virani, K. Wolter, R.E. Green. 2008. The race to prevent the extinction of south Asian vultures. *Bird conservation international* 18:S30–S48. doi: 10.1017/S0959270908000324.
- Rattner, B.A., M.A. Whitehead, G. Gasper, C.U. Meteyer, W.A. Link, M.A. Taggart, A.A. Meharg, O.H. Pattee, D.J. Pain. 2008. Apparent tolerance of turkey vultures (*Cathartes aura*) to the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. *Environmental toxicology and chemistry*, 27(11): 2341. doi: 10.1897/08-123.1.
- Zorrilla, I., R. Martinez, M.A. Taggart, N. Richards. 2015. Suspected Flunixin poisoning of a wild Eurasian griffon vulture from Spain. *Conservation biology*, 29:587-92. doi: 10.1111/cobi.12417.

Epilepsia estructural felina secundaria a porencefalia. A propósito de un caso clínico

Feline structural epilepsy secondary to porencephaly. A clinical case

HÉCTOR GIL GONZALO, ALICIA GONZÁLEZ GARCÍA,

LUCÍA SORIA TOBAR Y BEATRIZ VILLA BUENO

Facultad de Veterinaria de la UCM

Tutora: Dra. Miriam Portero Fuentes

lusoria@ucm.es

Resumen: Introducción: la porencefalia es una enfermedad poco frecuente caracterizada por la presencia de una cavidad quística en el encéfalo rellena de líquido cefalorraquídeo. La etiología puede ser congénita o adquirida pero la presentación clínica de la enfermedad no suele permitir determinar la causa de la porencefalia. Las lesiones, habitualmente, se localizan próximas al tercer ventrículo produciendo como signo clínico principal crisis epilépticas. Caso clínico: gato común europeo, hembra, castrada de 9 años con historial de 3 años de crisis convulsivas. Tras dos años de tratamiento con levetiracetam y ante un empeoramiento del cuadro se diagnostica mediante resonancia magnética una asimetría ventricular con sospecha de hidrocefalo focal ex-vácuo asociado a defecto cortical en el lóbulo frontal izquierdo compatible con porencefalia. Ante la persistencia de crisis epilépticas y el deterioro neurológico, se realiza la eutanasia humanitaria del paciente. Discusión: en gatos, la epilepsia estructural es más frecuente que la epilepsia idiopática por lo que es conveniente realizar un protocolo diagnóstico completo. La localización más habitual de la porencefalia condiciona que la presentación más habitual sean crisis epilépticas. La etiología exacta de la lesión en el paciente no pudo ser determinada, pero podría ser explicada por los antecedentes de traumatismo o la enfermedad vírica previa.

Palabras clave: porencefalia, epilepsia estructural, ataque epiléptico, gato.

Abstract: Introduction: porencephaly is a rare disease that consists on the presence of a cystic cavity filled with cerebrospinal fluid in the encephalon. Ethiology can be congenital or acquired but often, determination of porencephaly's cause is not possible due to disease's clinical presentation. Injuries are usually located near the third ventricle producing seizures as the main clinical sign. Clinical case: nine years old neutered female domestic shorthair cat with a 3 years-long history of seizures in treatment with levetiracetam is presented with convulsive status epilepticus of partial seizures. Magnetic resonance image is performed revealing the presence of ventricle asymmetry with suspected focal ex vacuo hydrocephalus associated to a cortical defect in left frontal lobe. Due to status epilepticus and severe neurological impairment, humanitarian euthanasia is decided. Discussion: structural epilepsy is far more common in cats than idiopathic epilepsy therefore, a cat referred with seizures should be subjected to a structural epilepsy diagnostic protocol. More common locations of porencephaly determine the usual clinical signs, seizures. Exact etiology of the patient's lesion could not be determined but could be explained by the history of head trauma and viral disease.

Key words: porencephaly, structural epilepsy, seizure, cat.

1. INTRODUCCIÓN

La presencia de ataques epilépticos en la especie felina es una de las manifestaciones neurológicas más frecuentes. La incidencia de epilepsia idiopática en gatos, a diferencia de en la especie canina, es muy inferior a la epilepsia estructural (Pákozdy *et al.*, 2010). Numerosas patologías pueden originar crisis epilépticas en gatos y todas ellas deben considerarse en el diagnóstico diferencial de las mismas.

La porencefalia se define como la presencia de una cavidad, focal, vesicular rellena de líquido cefalorraquídeo (LCR) en el encéfalo. Actualmente, no existe un consenso para su definición precisa ni su clasificación. Esto es debido a que algunos autores ignoran en su definición bien la patogénesis, o bien la morfología de la lesión. En medicina humana se describen 2 tipos de porencefalia (Schmidt *et al.*, 2012):

Porencefalia verdadera o del desarrollo: condición genética que se produce por un problema en la migración neuronal durante la formación de los hemisferios cerebrales.

Porencefalia encefaloclástica o destructiva: asociada a lesiones cerebrales producidas por isquemia, toxicidad, trauma o infección durante la etapa fetal. Las lesiones cerebrales embrionarias pueden producir tanto atrofia como hipoplasia del tejido nervioso debido a

la destrucción de los centros germinales. Este tipo de porencefalia es la que se observa en gatos de corta edad con infección perinatal por el virus de la panleucopenia felina. En estos casos las respuestas de los macrófagos a las lesiones cerebrales son anteriores a las de las células gliales (reparación del sistema nervioso central) y por lo tanto, la reabsorción del tejido necrótico puede ocurrir sin dejar signos de lesiones antiguas que nos permitan saber si la lesión es anterior (lesiones del desarrollo) o producida por una atrofia posterior.

Las manifestaciones neurológicas en animales con porencefalia suelen estar presentes desde una edad temprana, aunque pueden no causar ninguna disfunción neurológica hasta la edad adulta. Los signos clínicos característicos son principalmente ataques epilépticos (principalmente tónico clónicos generalizados) ataxia, cambios de comportamiento, estado mental alterado y signos cerebelo-vestibulares (ladeo de cabeza, reacción de amenaza negativa, dismetría, nistagmos posicionales, estrabismo ventral, temblor de intención). No está claramente definido si la porencefalia afecta también directamente al cerebelo (en forma de lesiones no detectadas ni en resonancia magnética (RM) ni en necropsias); sin embargo, sí se hay descritas referencias de afectación de una zona vestibular en la corteza rostral, por lo que lesiones en esta zona pueden dar lugar a síntomas cerebelo-vestibulares descritos. El diagnóstico se realiza mediante un cribado inicial, para descartar otras patologías más comunes como neoplasias, enfermedades inflamatorias o infecciosas. El protocolo diagnóstico incluye: anamnesis, exploración física y neurológica, así como, analítica de sangre (hemograma, bioquímica, serología de enfermedades infecciosas y hormonas tiroideas), de orina, técnicas de imagen avanzadas (RM y/o tomografía computerizada) y análisis de LCR. El tratamiento es sintomático con anticonvulsivantes en caso de crisis epilépticas como fenobarbital o levetiracetam (Hori *et al*, 2015; Davies *et al*, 2012). El pronóstico en gatos es desconocido hasta la fecha.

2. PRESENTACIÓN DEL CASO

Se presenta el caso clínico de una gata, hembra castrada de 9 años de edad que acude a nuestro centro por presentar ataques epilépticos desde los 6 años con una frecuencia actual de 1 ataque cada 9 días. En el periodo post-ictal el paciente presenta incoordinación y la duración del mismo se ha ido alargando progresiva-

mente. Como antecedentes reseñables del paciente destacan que padeció un traumatismo con un año de edad, herpesvirosis ocular y dificultad en la prensión de alimentos. La exploración neurológica es normal a excepción de un discreto déficit de propiocepción en la extremidad anterior derecha (ligero retraso en la prueba del salto), así como, disminución del reflejo palpebral en el canto lateral del ojo derecho. Los diagnósticos diferenciales establecidos en base a la anamnesis y la exploración neurológica son: epilepsia estructural (malformación congénita/ secundaria a traumatismo/ meningoencefalitis infecciosa/ meningoencefalitis inmunomediada/ tumor intracraneal) y menos probable, epilepsia idiopática (el paciente presenta alteraciones en la exploración neurológica). Se recomienda realizar analítica sanguínea y de enfermedades infecciosas (leucemia, inmunodeficiencia felina y coronavirus felino) que resultan negativas, así como RM intracraneal y análisis de LCR que son rechazadas por los propietarios por motivos económicos. Se inicia tratamiento médico sintomático con fenobarbital 1,5mg/Kg/12h vía oral (PO). Un mes después, este tratamiento se reemplaza de forma paulatina por levetiracetam 13 mg/Kg/12h PO por los efectos secundarios derivados del fenobarbital (sedación y debilidad marcada). Con este tratamiento los ataques epilépticos se controlaron, aunque persistían las alteraciones neurológicas e incluso aparecieron signos nuevos como anisocoria con miosis pupilar derecha. Se vuelve a recomendar realizar RM, pero los propietarios lo rechazan nuevamente.

Dos años después acude de urgencia por presentar alteración del estado mental, anorexia de 36 horas de duración y ptialismo. En la exploración neurológica se aprecia estado mental obnubilado, “*pressing*” contra la jaula, marcha en círculos, y tics faciales compatibles con crisis parciales (Fig. 1). La reacción de amenaza es negativa en ambos ojos, presenta anisocoria con midriasis del ojo izquierdo, estrabismo posicional ventrolateral bilateral y reflejo oculomotor alterado. Se sospecha de estatus epiléptico de crisis parciales. Se administra diacepam (0,3mg/Kg intravenoso (IV)), levetiracetam (40mg/Kg IV) y manitol (1g/Kg IV en 20 minutos) con un cese completo de las crisis y recuperación parcial del estado mental. Se realiza RM intracraneal en la



Figura 1. Vídeo del paciente estatus epiléptico de crisis parciales

que se observa una asimetría ventricular, con sospecha de hidrocefalo focal *ex vacuo* asociado a defecto cortical en lóbulo frontal izquierdo pero sin presencia de masas, realce, inflamación o edema periférico, lo que sugiere que la lesión es probablemente crónica. Las causas no pueden ser determinadas, pero la zona podría representar una región de porencefalia (Fig. 2).

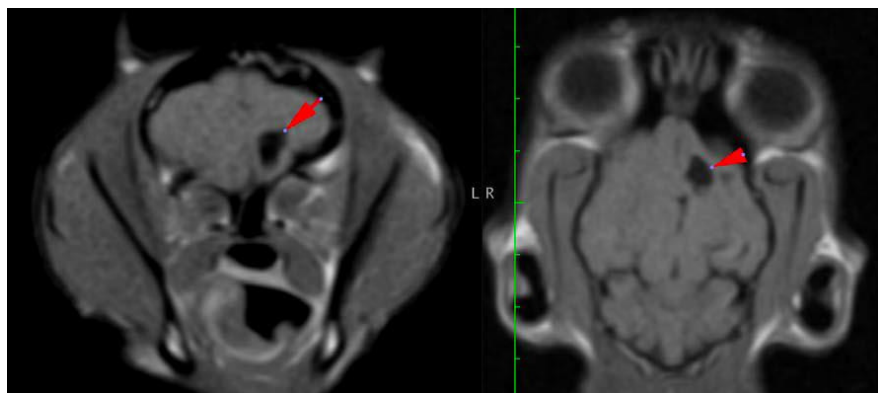


Figura 2. Imagen de RM. Defecto cortical en lóbulo frontal izquierdo. Porencefalia.

Esta alteración podría ser congénito o adquirido y entre las causas cabe considerar causas infecciosas, tóxicas, vasculares o incluso traumáticas. No se realiza extracción de LCR por complicaciones anestésicas. Tras la RM, el paciente presenta un empeoramiento del estado mental que mejora tras la administración de flumacénilo (0,04 mg/kg IV) y dos bolos de manitol (1 gr/kg IV en 20 minutos). Se instaura tratamiento con clindamicina (15mg/Kg/12h IV), omeprazol (1mg/Kg/12h IV), metilprednisolona (1mg/Kg/24h IV) y levetiracetam 20 mg/kg/8h IV. Tras 24h de estancia el paciente presenta cierta mejoría con recuperación del estado mental y los propietarios optan por el alta voluntaria. Un día más tarde vuelve a acudir a urgencias por presentar de nuevo estatus epiléptico y estado mental comatoso y se realiza la eutanasia humanitaria del paciente.

3. DISCUSIÓN

La incidencia de epilepsia idiopática (aquella que no presenta lesiones intracraneales ni alteraciones en el análisis de LCR) en gatos es muy baja (38%) en comparación con la incidencia de epilepsia estructural (en la que sí hay una alteración bien en los hallazgos de RM o en el análisis de LCR; 62%) (Pákozdy *et al.*, 2010). Debido a ello, ante la aparición de ataques epilépticos en un gato (independientemente de la edad), se recomienda realizar un estudio de RM y análisis de LCR como protocolo diagnóstico de elección, una vez descartadas las causas de convulsiones reactivas (alteraciones sistémicas que causan ataques epilépticos). En este caso, los propietarios rechazaron realizar la RM lo que demoró el diagnóstico 2 años. Sin embargo, este diagnóstico no habría cambiado el tratamiento instaurado ya que no existe ningún tratamiento específico para la porencefalia que es la causa de los ataques epilépticos en nuestro caso. Sí que habría permitido emitir un pronóstico más preciso, ya que la presencia de una lesión productora de los ataques epilépticos, la cual no se puede solventar, empeora mucho el pronóstico como ocurrió al final con este paciente. Aunque no esté determinada la relación exacta entre los ataques epilépticos y la porencefalia, ésta última parece tener localización preferente en áreas concomitantes con el tercer ventrículo afectando a estructuras del hipocampo que según diversos estudios sí cursan con crisis epilépticas y alteración de la consciencia (Hori *et al.*, 2015). En nuestro caso, la localización de las lesiones descritas justifica las alteraciones observadas en la exploración neurológica así como los signos clínicos que presentaba el paciente. La bibliografía consultada sugiere la etiología de la porencefalia como congénita o secundaria a trauma, isquemia, tóxicos o infecciones (sobre todo víricas como panleucopenia felina) (Hori *et al.*, 2015). En nuestro paciente, no se puede deducir la antigüedad ni posiblemente la etiología concreta de la lesión por RM (ni si hubiese sido el caso, por histopatología) debido a que los mecanismos de reparación del encéfalo consisten en una fagocitosis por parte de las células de la glía lo que ocasiona la aparición de cavidades quísticas, no dejando cicatriz que permita determinar la antigüedad del proceso. La presentación tardía de las crisis parece descartar porencefalia congénita, apuntando así a una porencefalia secundaria a trauma, isquemia, tóxicos o infecciones. No existen en la historia clínica antecedentes de intoxicaciones ni de isquemia cerebral, aunque sí que existen

antecedentes tanto de traumatismo como de enfermedad vírica previa. El traumatismo descrito por los propietarios sí que parece ser lo suficientemente intenso como para causar la lesión por lo que puede ser la causa más probable. En la bibliografía consultada por los autores no se ha encontrado relación entre herpesvirus felinos y la aparición de porencefalia aunque sí que existe correlación entre gammaherpesvirus ovinos y porencefalia (Machado *et al*, 2012) por lo que, aunque parece algo más improbable, no se puede descartar la infección viral como causa de las lesiones.

4. CONCLUSIONES

- La porencefalia es una enfermedad poco frecuente del sistema nervioso central que puede producir ataques epilépticos.
- La resonancia magnética no permite conocer la etiología ni la antigüedad de la lesión.
- El tratamiento de la porencefalia es sintomático.
- Debido al reducido porcentaje de epilepsia idiopática en la especie felina, los gatos que presenten crisis epilépticas deberían ser sometidos a un protocolo diagnóstico completo que incluya analítica sanguínea, serología frente a enfermedades infecciosas, estudio de resonancia magnética o tomografía computerizada y análisis de LCR.

BIBLIOGRAFÍA

- Barnes Heller, H., Steinberg, H., Drees, R. & Petersen, S. 2016. What is your neurologic diagnosis? *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 249(1): 55-57. doi:10.2460/javma.249.1.55
- Davies, E. S. S., Volk, H. A., Behr, S., Summers, B., de Lahunta, A., Syme, H., Garosi, L. 2012. Porencephaly and hydranencephaly in six dogs. *The Veterinary Record*. 170(7): 179. doi:10.1136/vr.100109
- Hori, A., Hanazono, K., Miyoshi, K., Nakade, T. 2015. Porencephaly in dogs and cats: Relationships between magnetic resonance imaging (MRI) features and hippocampal atrophy. *Journal of Veterinary Medical Science*. 77(7): 889-892. doi:10.1292/jvms.14-0359
- Mackillop, E. 2011. Magnetic resonance imaging of intracranial malformations in dogs and cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 52(1 Suppl 1), S51. doi:10.1111/j.1740-8261.2010.01784.x
- Machado, G.F., Laranjeira, M.J., Schweigert, A., Dias de Melo, G. 2012. Porencephaly and cortical dysplasia as cause of seizures in a dog. *BMC Veterinary Research*. 8(1): 246. doi:10.1186/1746-6148-8-246

- Pákozdy A, Leschnik M, Sarchahi AA, Tichy AG, Thalhammer JG. 2010. Clinical comparison of primary versus secondary epilepsy in 125 cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 12(12):910-916. doi: 10.1016/j.jfms.2010.07.001
- Schmidt, M. J., Klumpp, S., Amort, K., Jawinski, S. & Kramer, M. 2012. Porencephaly in dogs and cats: Magnetic resonance imaging findings and clinical signs. *Veterinary Radiology & Ultrasound: The Official Journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association*. 53(2):142. doi: 10.1111/j.1740-8261.2011.01887.x

Conocimiento sin límites

Knowledge without limits

ÁNGELA GONZÁLEZ FERNÁNDEZ, ANA DE LUIS CALDERÓN,
CARLA MUÑOZ EXPÓSITO Y SILVIA RUBÍES SÁNCHEZ
Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid
ange12@ucm.es, anadluis@ucm.es,
carlam06@ucm.es y srubies@ucm.es

Resumen: Como un método alternativo de aprender farmacología, surgió la idea de utilizar la película “Sin límites” que, narra la historia de un escritor consumidor de una nueva droga de síntesis para potenciar su capacidad creativa, para revisar el conocimiento actual sobre los fármacos conocidos como potenciadores cognitivos o nootrópicos. La selección de escenas de la película sirve como punto de partida para la revisión de distintos aspectos farmacológicos (farmacodinamia y farmacocinética, efectos sobre el organismo, uso y abuso, efectos adversos) de este grupo de fármacos demostrando la utilidad de películas de ficción como un recurso docente útil para el aprendizaje de la farmacología.

Palabras clave: Nootrópicos, Guía Docente, Sin límites, Película.

Abstract: As an alternative method of learning pharmacology, the movie “Limitless” that, narrates the history of a writer consuming a new drug of synthesis to promote his creative aptitude, was used to review the current knowledge of drugs known as cognitive enhancers or nootropics. The selection of scenes of the movie serves as starting point for the review of different pharmacological aspects (pharmacodynamics and pharmacokinetics, effects on the organism, use and abuse, adverse effects) of this group of drugs demonstrating the usefulness of fiction movies as an educational useful resource for the learning of the pharmacology.

Keywords: Nootropics, Educational Guide, Limitless, Movie.

1. INTRODUCCIÓN

La farmacología es una materia considerada compleja y muchos recursos educativos, más allá de los tradicionales, han sido explorados para un mejor y más eficaz proceso de aprendizaje, entre ellos, el uso de películas en distintos formatos (Farré *et al.*, 2004). La

película “Sin Límites” (Limitless) dirigida por Neil Burger en 2011, relata el éxito fulgurante de un escritor tras comenzar a consumir una nueva droga de síntesis (NTZ-48, en la película) que potencia significativamente sus facultades mentales. Esta película fue seleccionada como referencia para plantear distintos aspectos farmacológicos de un grupo de principios activos conocido como nootrópicos o más coloquialmente, drogas inteligentes o smart drugs.

El término nootrópico fue acuñado por el químico y psicólogo rumano Corneliu E. Giurgea en 1972, descubridor del piracetam, a partir de las palabras griegas νοῦς (nous, mente) y τρέπειν (trepein, cambiar de dirección) (Giurgea, 1972). Los nootrópicos son compuestos de naturaleza muy diversa (fármacos, drogas, plantas y extractos naturales, suplementos dietéticos, nutracéuticos o alimentos funcionales) que se caracterizan por potenciar diversas funciones mentales, incluyendo la memoria, la motivación, la concentración y la atención. Es un grupo muy numeroso de sustancias, como sus mecanismos de acción, tanto de origen sintético como natural, muchas de las cuales se conocen desde tiempos remotos y han sido utilizados por numerosas culturas y distintas épocas con fines muy diversos (Ruiz Franco, 2007).

La presión de la sociedad sobre el individuo en alcanzar el éxito social y laboral impulsa una creciente demanda de fármacos y de otros compuestos que mejoren tanto nuestras capacidades físicas como intelectuales, así como nuestra competitividad y bienestar. Dentro de estos podemos encuadrar a los nootrópicos o también llamados potenciadores cognitivos. Sin embargo, aunque se ha avanzado mucho aún es limitada la información sobre el uso, los efectos y el grado de mejoramiento cognitivo en la vida diaria en sujetos sanos, así como su utilidad terapéutica en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (EA) entre otras.

El objetivo de este trabajo es revisar el conocimiento actual a partir de la bibliografía disponible sobre este grupo de fármacos a partir de una serie de cuestiones que se podrían plantear tras el visionado de la película “Sin límites”, relativas a distintos aspectos farmacológicos (farmacodinámicos, farmacocinéticos, uso y abuso, efectos beneficiosos y adversos o disponibilidad) de los nootrópicos necesarios para establecer la eficacia y la seguridad de los distintos compuestos con estas propiedades.

2. DISCUSIÓN

2.1. Selección de escenas

Tras el visionado de la película se seleccionaron con ayuda del tutor aquellas escenas que podrían servir de base para la discusión de distintos aspectos farmacológicos de los nootrópicos y sus efectos. Para ello se seleccionaron diferentes fragmentos de la película que fueron relacionados con sus cualidades o características farmacológicas (farmacodinamia, farmacocinética, efectos secundarios, efectos adversos, dependencia/abstinencia, legalidad y complementos y el uso en veterinaria en animales de experimentación) (Tabla 1). Esta tabla puede servir como base para la elaboración de una guía docente para el trabajo en grupo con los alumnos y en la cual, a partir de ciertas escenas, se planteen temas para la búsqueda de información y su discusión en clase. Esta metodología se podría fácilmente adaptar a otros temas o contenidos utilizando otras películas como referencia.

Tabla 1. Relación entre distintos conceptos farmacológicos con escenas o frases que aparecen en la película.

Conceptos Farmacológicos	Escenas de la película/Frases
Farmacocinética	Ingestión oral y efecto rápido
Farmacodinamia	"Receptores en el cerebro que activan determinados circuitos"
Efectos sobre el organismo	Trabaja velozmente, diálogo fluido, mayor energía, atención...
Uso y abuso	Dependencia, uso de la violencia, muerte...
Efectos adversos	Desubicación, dejar de comer, jaquecas, vómitos...

2. 2. Farmacocinética y Farmacodinamia

En la película el protagonista ingiere la droga por vía oral y esta tiene en su organismo un rápido efecto. En general, los fármacos nootrópicos son administrados por vía oral y tienen un efecto a corto plazo, siendo absorbidos generalmente a nivel del tracto gastrointestinal (Nicholson, 1990).

En cuanto a sus dianas farmacológicas, los nootrópicos se han dividido en tres grandes grupos en función de las distintas dianas

farmacológicas que han sido estudiadas para el desarrollo de nuevos fármacos:

Unión al receptor: Llevan a cabo su mecanismo de acción mediante la unión a distintos tipos de receptores (adrenérgicos, de adenosina, de angiotensina, de acetilcolina, GABA, entre otros) hasta un total de más de cuarenta descritos. Dentro de este grupo encontramos fármacos como el piracetam y sus derivados o la memantina aprobada en 2002 para el tratamiento de la EA (Froestl *et al.*, 2004a).

Unión a enzimas: Numerosas dianas enzimáticas han sido estudiadas para identificar fármacos con posible potencialidad como potenciadores cognitivos. Hasta sesenta grupos de enzimas han sido estudiadas (acetilcolinesterasa, butirilcolinesterasa, acetiltransferasas, etc). Algunos de los fármacos aprobados para el tratamiento de EA son donepezil, rivastigmina, galantamina, huperzina A (Froestl *et al.*, 2004b).

Unión a enzimas: Unión a otras dianas distintas a receptores o enzimas: Se han estudiado distintas dianas con potencial para el tratamiento de déficits cognitivos desde genes (gen ApoA1), citoquinas inflamatorias, proteínas de choque térmico (Hsp90), hormonas (melanocortina) o canales iónicos, entre otras. Muchos de los compuestos con actividad sobre estas dianas están en fase II y III de ensayos clínicos (Froestl *et al.*, 2004c).

2. 3. *Efectos sobre el organismo*

Relacionándolo con la película, en una escena de esta vemos como el protagonista es capaz de escribir un libro en una semana o aprender rápidamente sobre especialidades que nunca había estudiado. Estas acciones que en la película están algo exageradas, se han atribuido a distintos fármacos nootrópicos y se relacionan con su capacidad de estimular el sistema nervioso central y las capacidades cognitivas y de aprendizaje.

El fármaco que más se asemeja al que se ve reflejado en la película en cuanto a sus efectos (mayor estado de alerta, incremento de la energía, incremento de la atención, mejora de los dominios cognitivos y utilización de la inteligencia preexistente es el modafinilo. En estudios psicométricos mejora la función ejecutiva, la atención y la memoria, pero parece tener poco efecto sobre la creatividad y la excitabilidad motora (Battleday and Brem, 2015).

Existe un nootrópico natural de naturaleza vegetal, *Bacopa monnieri* (Sahoo *et al.*, 2017) usado en medicina ayurvédica que es uno de los nootrópicos más estudiados y usados para estimular la memoria, la capacidad cognitiva y la función cerebral. Mejora la transmisión sináptica en el cerebro potenciando la memoria a largo plazo. Hay un derivado de este nootrópico que promueve mecanismos secuestradores de radicales libres y protege a las células de la corteza prefrontal, hipocampo y cuerpo estriado de la citotoxicidad y el daño del DNA implicado en la EA. Tiene un efecto neuroprotector en las neuronas colinérgicas y reduce la actividad de la acetilcolinesterasa, así como la mejora de la memoria y la reducción del deterioro cerebral (Chaudhari *et al.*, 2017).

2.4. *Uso y abuso*

Uno de los aspectos que vemos tratados en la película “Sin Límites” es la dependencia. Esta situación de ver mejoradas todas sus capacidades cognitivas le crea al sujeto una situación de dependencia por la sustancia, en la cual no puede dejar de tomarla, incluso se ve obligado a aumentar la dosis, puesto que cada vez se necesita una mayor dosis para provocar los mismos efectos. Se refleja así una situación de dependencia como consecuencia de la toma de la sustancia de forma continuada, y como consecuencia de esto el organismo se empieza a volver tolerante a la sustancia. A raíz de esto, el propio protagonista llega a un estado de dependencia física por la sustancia, en el cual el organismo precisa de un cierto nivel del fármaco o sustancia para poder seguir experimentando ese mayor nivel de capacidades cognitivas. Además, también se ve envuelto en un nivel de dependencia social, en donde se ve obligado a tomar la sustancia para poder afrontar los diversos problemas que se le van planteando y no fracasar en la realización de sus compromisos.

También se refleja un síndrome de abstinencia, en donde el protagonista, tras dejar de tomar la pastilla, ve que comienza a desarrollar una serie de malestares tanto físicos como psíquicos como jaquecas, vómitos, falta de concentración y en el peor de los casos la muerte de otros consumidores. Estos efectos aparecen en el momento en el que se interrumpe o se disminuye de forma importante la administración de la sustancia en la persona que había desarrollado la dependencia. El inicio, duración e intensidad del cuadro de los síntomas dependerán de la sustancia, dosis consumida y del

tiempo transcurrido desde la última dosis (Sahoo *et al.*, 2017). Dichos efectos pueden recordar al modafinilo en la vida real, sus efectos secundarios son muy similares (fuertes dolores de cabeza, náuseas, ansiedad, nerviosismo, diarrea y fuertes dolores musculares).

2.5. *Efectos adversos*

En la película vemos que el protagonista tiene una serie de efectos secundarios derivados del síndrome de abstinencia o como efectos adversos (dolor de cabeza, náuseas, ansiedad, nerviosismo, amnesia transitoria, efecto disociativo y alteración espacial). En general, los efectos adversos descritos en la literatura son menos comunes en las sustancias de origen natural comparadas con las sintéticas.

Entre estos efectos adversos los más habituales ocurren a nivel nervioso (insomnio, nerviosismo, agresividad, ansiedad, depresión, irritabilidad, psicosis, alucinaciones, pensamientos suicidas, cambios de humor y alteración espacial y/o temporal, convulsiones e isquemia cerebral transitoria).

Otro tipo de efectos adversos son las alteraciones cardiovasculares. Puede aparecer taquicardia, arritmias, hipertensión, infarto de miocardio y bradicardia. Algunas alteraciones gastrointestinales descritas son dolor abdominal, diarrea, náuseas, vómitos, xerostomía y estreñimiento. También pueden producir trastornos de la alimentación tales como anorexia y pérdida de apetito. Algunos nootrópicos podrían favorecer incluso una infección como por ejemplo faringitis en el caso del metilfenidato. Por último, también pueden darse algunos problemas sanguíneos y/o linfáticos tales como anemia, leucopenia, trombocitopenia y pancitopenia (Frati *et al.*, 2015).

3. CONCLUSIONES

La película “Sin Límites” puede ser un recurso útil para la discusión de distintos aspectos relacionados con la farmacología, en particular de sustancias con efectos sobre las capacidades cognitivas del individuo y los efectos derivados de su consumo. No solo permite tratar aspectos perjudiciales para nuestra salud o relacionados con el abuso de estas sustancias, sino nuevos beneficios y usos terapéuticos, desde su uso como potenciadores cognitivos o hasta su potencial utilidad en el tratamiento de enfermedades neurode-

generativas tales como el Alzheimer o en el retraso de la pérdida de las facultades cognitivas asociadas a la edad u otras causas.

AGRADECIMIENTOS

A nuestros tutores (Profs. Gilabert Santos y Encinas Cerezo) del Departamento de Farmacología por su ayuda y el apoyo en la realización de nuestro trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Battleday, R.M., and A.K. Brem. 2015. Modafinil for cognitive neuroenhancement in healthy non-sleep-deprived subjects: A systematic review. *European Neuropsychopharmacology*. 25:1865–1881. doi: 10.1016/j.euroneuro.2015.07.028
- Chaudhari, K.S., N.R. Tiwari, R.R. Tiwari, and R.S Sharma. 2017. Neurocognitive Effect of Nootropic Drug Brahmi (*Bacopa monnieri*) in Alzheimer's Disease. *Annals of Neuroscience*. 24:111–122. doi:10.1159/000475900
- Farré, M., F. Bosch, P.N. Roset, and J-E. Baños. 2004. Putting Clinical Pharmacology in Context: The Use of Popular Movies. *Journal of Clinical Pharmacology*. 44:30–36. doi: 10.1177/0091270003260679
- Frati, P., C. Kyriakou, A. Del Rio, E. Marinelli, G.M. Vergallo, S. Zaami, and F.P. Busardò. 2015. Smart drugs and synthetic androgens for cognitive and physical enhancement: revolving doors of cosmetic neurology. *Current Neuropharmacology*. 13:5–11. doi: 10.2174/1570159X13666141210221750.
- Froestl, W., A. Muhs, and A. Pfeifer. 2014a. Cognitive Enhancers (Nootropics). Part 1: Drugs interacting with Receptors. Update 2014. *Journal of Alzheimer's Disease*. 41: 961–1019. doi: 10.3233/JAD-140228
- Froestl, W., A. Muhs, and A. Pfeifer. 2014b. Cognitive Enhancers (Nootropics). Part 2: Drugs Interacting with Enzymes. Update 2014. *Journal of Alzheimer's Disease*. 42:1–68. doi: 10.3233/JAD-140402
- Froestl, W., A. Pfeifer, and A. Muhs. 2014c. Cognitive Enhancers (Nootropics). Part 3: Drugs Interacting with Targets other than Receptors or Enzymes. Disease-Modifying Drugs. Update 2014. *Journal of Alzheimer's Disease*. 42: 1079–1149. doi: 10.3233/JAD-121729
- Giurgea, C. 1972. Vers une pharmacologie de l'active integrative du cerveau: Tentative du concept nootrope en psychopharmacologie. *Actualités Pharmacologiques*. 25:115–156.
- Nicholson, C.D. 1990. Pharmacology of nootropics and metabolically active compounds in relation to their use in dementia. *Psychopharmacology*. 101: 147–159.
- Ruiz Franco J.C. 2007. *Drogas Inteligentes. Plantas, nutrientes y fármacos para potenciar el intelecto*. Editorial Paidotribo, Badalona. 262 pp.
- Sahoo, A.K., J. Dandapat, U.C. Dash, and S. Kanhar. 2017. Features and outcomes of drugs for combination therapy as multitargets strategy to combat Alzheimer's disease. *Journal of Ethnopharmacology*. 215:42–73. doi: 10.1016/j.jep.2017.12.015

Respuesta antibacteriana de nanopartículas de plata embebidas en vidrios mesoporosos $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$

Antibacterial response of silver nanoparticles embedded in mesoporous glasses $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$

ADELA GONZÁLEZ JIMÉNEZ, SANDRA SÁNCHEZ SALCEDO
Y ANA GARCÍA FONTECHA

Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid
adelag01@ucm.es

Resumen: Los MBGs (Mesoporous Bioactive Glasses) son biocerámicas de tercera generación usadas en regeneración del tejido óseo debido a su gran solubilidad y bioactividad. Este trabajo se centra en la síntesis MBGs trifásicos $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ mediante el método EISA (*Evaporation Induced Self-Assembly*) a los cuales se han incorporado nanopartículas de plata metálica. Estos materiales se han conformado en forma de piezas tridimensionales (3D) meso-macroporosas por el método de prototipado rápido. Se ha estudiado las de liberación de iones y se han realizado ensayos de inhibición de crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Con los resultados obtenidos se puede concluir que se han logrado sintetizar materiales mesoporosos y que la incorporación de plata impide el crecimiento bacteriano y destrucción del *biofilm* formado. Por tanto, estos materiales podrían ser buenos candidatos para implantes óseos y evitar así infecciones producidas en los procesos quirúrgicos de su implantación.

Palabras clave: Biomaterial, vidrios mesoporosos bioactivos (MBGs), nanopartículas de plata, antibacteriano.

Abstract: MBGs (Mesoporous Bioactive Glasses) are third generation bioceramics which are used in the bone tissue regeneration due to their great solubility and bioactivity. This research is focused on $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ triphasic mesoporous glasses synthesis with EISA method (*Evaporation Induced Self-Assembly*), in which silver metallic nanoparticles are added. After that, the preparation of meso-macroporous three-dimensional (3D) pieces was carried out by the rapid prototyping method of these materials. The ions release assays and *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* growth inhibition were realized.

It can be concluded that mesoporous materials have been synthesized and that the addition of silver prevent the bacterial growth and following biofilm formation. Therefore, they could be good candidates for bone implants to avoid infections produced by the surgical processes of their insertion.

Keywords: Biomaterial, mesoporous bioactive glasses (MBGs), silver nanoparticles, antimicrobial

1. INTRODUCCIÓN

El aparato locomotor está formado por el sistema óseo y el sistema muscular. Permite realizar funciones vitales a la vez que sirve de sostén y protección de los órganos del cuerpo.

El envejecimiento progresivo y el aumento de las afecciones articulares degenerativas producen un incremento en las patologías óseas, comprometiendo al aparato locomotor. Esto da lugar a un aumento de fracturas y defectos óseos, difíciles de tratar en algunos casos. Los avances en la ciencia de materiales y biomedicina son determinantes en este ámbito, ya que buscan crear materiales con el fin de reemplazar, reparar y regenerar el tejido óseo dañado.

Los biomateriales se clasifican en 3 familias: metales, polímeros y cerámicas. Estas últimas se subdividen en 3 generaciones (Salinas y Vallet-Regí, 2007). La tercera generación, sustituye y regenera tejido óseo dañado debido a su alta bioactividad. Gracias a su gran superficie específica sirven como soportes para células y sustancias biológicamente activas (factores de crecimiento, proteínas...) que se liberan de forma sostenida y favorecen estimulación celular necesaria para la regeneración ósea. En este grupo encontramos los vidrios de sílice con mesoporosidad ordenada (3-9 nm de diámetro). Además, se puede emplear la técnica de procesado-robocasting para obtener andamios 3D macroporosos del biomaterial. Esto consigue una porosidad jerarquizada dotada de canales (400-1000 μm), macroporos (1-400 μm) y mesoporos con propiedades similares al hueso (García *et al*, 2010).

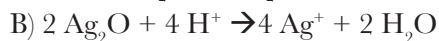
Hoy en día, las técnicas quirúrgicas y el uso de biomateriales es una solución a las patologías óseas. Uno de sus principales problemas radica en la infección bacteriana del implante pudiéndose formar un revestimiento de bacterias sobre el implante, es decir, se forma un *biofilm* que puede inhibir el efecto de antibióticos en esa zona, requiriendo una segunda intervención quirúrgica que

aumenta el riesgo y el coste del tratamiento y el sufrimiento del paciente.

La formación del *biofilm* ocurre en diferentes etapas: (1) Invasión: unión reversible de las bacterias planctónicas sobre la superficie; (2) Colonización: Las bacterias se unen de forma irreversible a la superficie por ligandos específicos formando microcolonias; (3) Maduración del biofilm: mientras las bacterias se dividen activamente, liberan EPS (sustancias poliméricas extracelulares) que forman el soporte para el *biofilm* y (4) Desprendimiento activo: las capas más externas presentan bacterias planctónicas que se desplazan para colonizar nuevas superficies.

La plata es un agente citotóxico que podría utilizarse contra la formación y destrucción del *biofilm* bacteriano en el implante, debido a que presenta a su vez efecto antiinflamatorio. Se cree que su mecanismo de acción tiene 3 dianas fundamentales (Chalouka *et al*, 2010): (1) Por un lado, es desnaturalizar las proteínas de la membrana plasmática, permitiendo la entrada de plata, y las proteínas de los ribosomas una vez se encuentra en el citoplasma; (2) Su afinidad por nitrógeno y fósforo le permite unirse al ADN citoplasmático bacteriano y dañarlo; (3) Presenta afinidad por grupos tioles de los aminoácidos que forman las enzimas implicadas en la cadena de transporte electrónico de la respiración, aumentando el estrés oxidativo.

Se postula que la actividad antibacteriana está directamente relacionada con la liberación de iones Ag^+ . La reacción que tiene lugar es la oxidación en disolución acuosa cuando se libera la plata en condiciones ácidas (Zong-min *et al*, 2012):



El objetivo del presente trabajo es comprobar la eficacia de la plata como agente antibacteriano incluyéndola en los MBGs (*Mesoporous Bioactive Glasses*) para su futuro uso como implantes óseos. Para ello, sintetizaron MBGs trifásicos $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ con diferente composición de plata (0, 0,3, 0,7 y 1 % molar) denominados MBG- $x\text{Ag}$ ($x = 0-1$) y se realizaron ensayos *in vitro* para evaluar su efecto en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. *Síntesis de los materiales MBG-xAG y diferentes conformados: disco y piezas 3D*

La síntesis de los materiales MBG-xAG ($x = 0, 0,3, 0,7$ y 1) se llevó a cabo mediante el método EISA, que combina la técnica sol-gel con la química de surfactantes utilizando $\text{Si}(\text{OEt})_4$, $\text{PO}(\text{OEt})_3$, $\text{CaNO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y AgNO_3 como fuente de SiO_2 , P_2O_5 , CaO y Ag , respectivamente. Se compactó por presión uniaxial en forma de disco de 10 mm de diámetro. Los materiales se extruyeron en forma de andamios 3D mediante la técnica de PR (prototipado rápido) utilizando un 3D BioplotterTM EnvisionTEC GmbH Prefactory[®]. Para ello se preparó una pasta cerámica utilizando como material de partida el sol precursor del sistema SiO_2 - P_2O_5 - CaO - Ag al que posteriormente se le añadió 1.5 g del polímero hidroximetilcelulosa.

2.2. *Preparación de diferentes medios bacterianos*

Para los ensayos bacterianos se preparó medio de cultivo THB (Todd Hewitt Broth) a partir de 37 g de su preparado comercial y 1 L de agua milli-Q. Para la formación del biofilm se utilizó THB enriquecido con un 4% de sucrosa (favorece el crecimiento bacteriano).

Los estudios de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano se realizaron en placas con agar TSA (Tripsina Soy Agar) a partir de 40 g de su preparado comercial y 1 L de agua milli-Q.

2.3. *Ensayo de liberación de iones plata, calcio y fósforo en medio THB*

La evolución de los iones liberados se hizo por Espectroscopía de Plasma ICP-OES (Inductively Coupled Plasma). Para ello se sumergieron los discos de MBG-xAg en 3 mL de THB a 37°C y 100 rpm. Los discos se colocaron en membranas permeables Trasnwell[®] y a diferentes tiempos (8 horas, 1, 2, 3, 4, 7 y 10 días) se retiraron alícuotas de 2mL del medio para analizar a la vez que se repuso con 2 mL de THB nuevo para continuar con el ensayo.

2.4. *Formación de biofilm de Staphylococcus aureus y Escherichia coli*

Se esterilizan con EtOH y luz UV los portas donde se va a formar los biofilms de *S. aureus* y *E. coli*, las cuales se incubaron en THB. Los portas fueron tratados con 300 μ L de polilisina durante 90 minutos para facilitar la adhesión de las bacterias. Se usó un medidor de turbidez (turbidímetro) para controlar su crecimiento y cuando su absorbancia tiene valores entre 0,4 y 0,6 corresponde aprox. a una concentración 10^9 bacterias/mL. Se realizó una dilución 1:10 con medio THB al 4% de sucrosa, y se colocó 1 mL de este mezcla por porta y pocillo.

2.5. *Ensayos bacterianos de Staphylococcus aureus y Escherichia coli*

- Estudio de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano: Se colocaron los discos esterilizados de MBG-xAg en agar TSA previamente sembrados con suspensiones de 10^5 bacterias/mL de *S. aureus* o *E. coli* y se incubaron 24 h a 37°C.

- Inhibición del crecimiento de biofilms: Se puso en contacto el biofilm con el material MBG-xAg mediante una membrana Trasnwel[®] simulando las condiciones del estudio de liberación de iones (37°C, 100 rpm). Tras 24 h se estudió la evolución del biofilm mediante microscopía confocal (Olympus FV1200). Se empleó el kit Live/Dead Bacterial Viability Kit (Backlight[®]) para teñir el biofilm con SYTO[®]9 (verde), yoduro de propidio (rojo) y calcoflúor (azul).

3. RESULTADOS

3.1. *Conformado de piezas 3D*

Una vez preparada la pasta cerámica con la consistencia adecuada las piezas fueron extruidas a temperatura ambiente por el equipo 3D BioplotterTM EnvisionTEC GmbH Prefactory[®] y posteriormente se calcinaron a 700°C (6 horas) para eliminar la materia orgánica.



Figura 1. Equipo para el conformado de piezas 3D y piezas de antes y después de calcinar.

3.2. Ensayo de liberación de iones plata, calcio y fósforo en medio THB

Se observa que la liberación de todos los iones aumenta con el tiempo. Todos los materiales muestran el mismo patrón de liberación para el calcio y fósforo debido a que su composición permanece constante, $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ (85:10:5 % molar). Sin embargo en el caso de la plata se observan diferencias entre los materiales liberándose una mayor cantidad de plata en función de la cantidad que posea el material en su composición ($\text{MBG-1Ag} > \text{MBG-0.7Ag} > \text{MBG-0.3Ag}$).

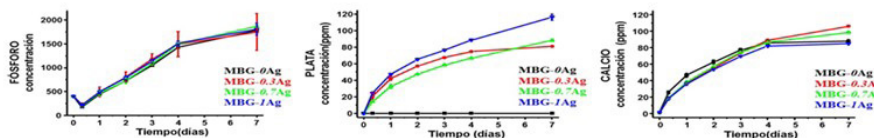


Figura 2: Curvas de liberación de calcio, fósforo y plata de MBG-xAg en THB con el tiempo.

3.3. Ensayos microbiológicos

Estudio de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano: Tras 24 h se observan halos de inhibición en aquellos discos que contienen plata ($\text{MBG-xAg } x \neq 0$).

Inhibición del crecimiento del biofilm. Microscopía confocal: El color verde corresponde a las bacterias vivas, mientras el color rojo se relaciona con las bacterias muertas. El color azul responde a la matriz extracelular del biofilm.

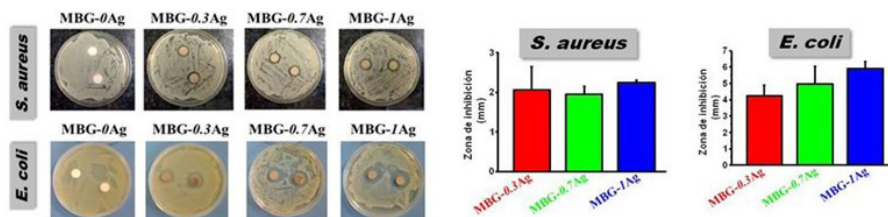


Figura 3: Halo formado para *S. aureus* y *E. coli* para los MBG-xAg.

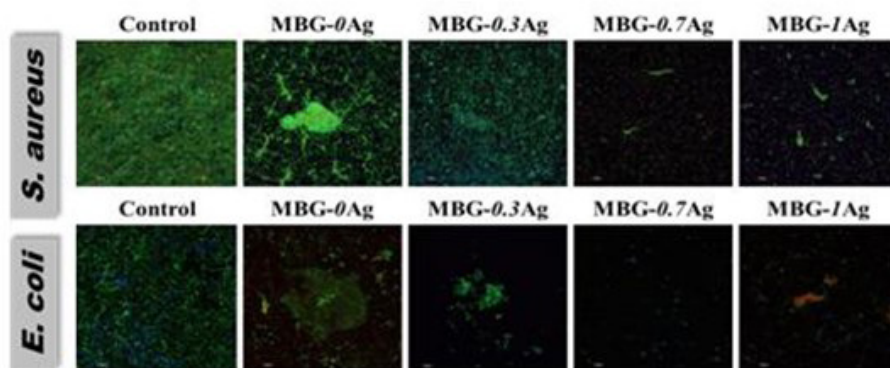


Figura 4: *Biofilms* observados por microscopía confocal para *S. aureus* y *E. coli* una vez tratados con los materiales MBG-xAg.

4. DISCUSIÓN

4.1. Conformado de piezas 3D

El PR es una técnica de diseño y fabricación de piezas porosas 3D. La adición de hidroximetilcelulosa en el procesado tiene dos objetivos: favorecer la extrusión por PR y la formación de macroporos tras la calcinación de las piezas.

4.2. Ensayo de liberación de iones plata, calcio y fósforo en medio THB

La técnica de ICP se emplea para para calcular la cantidad de iones liberados por el material al medio. En nuestro caso es de especial importancia la liberación de iones Ag^+ , puesto que son los que ejercerán el efecto antibacteriano. Se observa que la liberación es mayor según aumenta la cantidad de plata en el material, por

lo tanto tendrán un mayor efecto en las bacterias, lo cual se confirmará el efecto de la plata en la inhibición del crecimiento y la destrucción del biofilm.

4.3. *Ensayos antibacterinos*

En los ensayos de halo de inhibición podemos observar que tras 24 h la plata se ha liberado y ha ejercido su efecto antibacteriano, aunque prácticamente ha sido el mismo en todos los materiales ya que el halo de inhibición es similar.

Las imágenes obtenidas mediante microscopía confocal nos muestran cómo se comporta el biofilm con cada material. Podemos observar que a medida que aumenta la cantidad de plata del material se produce una mayor destrucción del biofilm ya que disminuye el número de bacterias vivas de manera considerable.

En ambos ensayos, se observa que la plata puede actuar inhibiendo el crecimiento de bacterias Gram negativas (*E. coli*) como Gram positivas (*S.aureus*).

5. CONCLUSIONES

A través del método de síntesis EISA se han logrado sintetizar vidrios mesoporosos a los que se han incorporado homogéneamente nanopartículas de plata metálica. Posteriormente se ha logrado conformar estos composites en forma de andamios meso-macroporosos 3D por PR. Se observa que la liberación de iones Ag^+ en estos materiales es progresiva, siendo mayor en aquellos en los que el MBG presenta mayor cantidad de nanopartículas de plata en su estructura e impidiendo de manera más eficaz el crecimiento bacteriano y destruyendo el *biofilm* una vez formado.

Por lo tanto, este tipo de materiales se proponen como candidatos para su uso como implantes óseos ya que podrían ser capaces de evitar y/o tratar infecciones producidas en los procesos quirúrgicos de su implantación.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración al Dpto. de Química en Ciencias Farmacéuticas (U. D. Química Inorgánica y Bioinorgánica) de la

Facultad de Farmacia y especialmente a mis tutoras Ana García Fontecha y Sandra Sánchez Salcedo.

BIBLIOGRAFÍA

- Chalouka, K., Y. Malam and A.M. Seifalian. 2010. Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. *Trends in Biotechnology*. 28: 580-588. doi: 10.1016/j.tibtech.2010.07.006.
- García, A., I. Izquierdo, M. Colilla, C. López de Laorden and M. Vallet-Regí. 2010. Preparation of 3-D scaffolds in the $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ system with tailored hierarchical meso-macroporosity. *Acta Biomaterialia*. 7:1265-1273. doi: 10.1016/j.actbio.2010.10.006
- Salinas, A. and M. Vallet-Regí. 2007. Evolution of Ceramics with Medical Applications. *Z. Anorg Allg. Chem.* 633:1762–1773. doi:10.1002/zaac.200700278
- Zong-min, X., Z. Qing-bo, L. Hema, C. Vicki and P. Alvarez. 2012. Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. *Nano Lett.* 12:4271–4275. doi: 10.1021/nl301934w

Estructura genética de las poblaciones humanas y sus implicaciones en la salud pública: el caso del Alzheimer

Genetics structure of human populations and their implication in public health: the case of Alzheimer

ESTER HERNÁNDEZ CORREAS Y MIRIAM VILLASEVIL GÁLVEZ

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid

mirvil01@ucm.es

Resumen: El Alzheimer es una enfermedad degenerativa del tejido neuronal. Las mitocondrias están relacionadas en el desarrollo de dicha enfermedad, debido a que son vitales para la obtención de energía que requieren las células para mantenerse vivas.

La conexión entre el Alzheimer y la mitocondria la encontramos en el ADN mitocondrial. Las variaciones en la cadena de ADN mitocondrial pueden conformar diferentes haplogrupos. En nuestro caso el haplogrupo H presenta correlación con el desarrollo de la enfermedad. Este haplogrupo se encuentra distribuido principalmente en poblaciones europeas, y aparece en menor proporción en Asia y África.

Al realizar un estudio comparativo entre diferentes poblaciones a nivel mundial, efectivamente encontramos diferencias significativas, lo que nos habla de una subestructura geográfica de los haplogrupos. Ello corrobora la distribución europea del haplogrupo H y, en consecuencia, también delimita la región donde hay mayor riesgo de padecer Alzheimer. Esto es realmente importante en el ámbito de la política sanitaria que deberá aplicarse en cada región, atendiendo a las necesidades de cada población.

Palabras clave: Alzheimer, Mitocondria, Haplogrupo, Población, Subestructura.

Abstract: Alzheimer is a neurodegenerative disease that affects a large number of population. Mitochondria are involved in the process of developing this disease, due to the fact that mitochondria are vital in the process to obtain energy for the cells.

A strong relationship between Alzheimer disease and mitochondria has been reported. The cause is mitochondria DNA. The variation of the mitochondrial DNA is caused by mutation, which forms haplogroups.

Alzheimer disease is associated to haplogroup H. In Europe there is a lot of cases of individuals whom are haplogroup H. However, in Asia or Africa there are less cases of this haplogroup.

The research of different populations of the world has shown that they have significant differences. It is therefore likely that such connections exist between the differences among world population and disease. Hence, it could conceivably be hypothesised that the sanitary politics in different parts of the world could be different depending on the impact of the disease in the area.

Key words: Alzheimer, Mitochondrial, Haplogroup, Population, Substructure.

1. INTRODUCCIÓN

La mitocondria es un orgánulo celular que posee un ADN propio de 16.559pb, conocido como ADN mitocondrial (mtDNA). Se trata de una cadena de ADN circular, con altas tasas de mutación, que se transmite exclusivamente por vía materna. El estudio detenido de las variaciones polimórficas acumuladas en este genoma (llamado también mitogenoma) permite definir grupos –conocidos como haplogrupos– que se distribuyen subestructuradamente en el tiempo y en el espacio.

El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa e irreversible que constituye la principal causa de demencia en mayores de 60 años. Se han determinado distintos factores, tanto genéticos como epigenéticos, como causas de esta enfermedad, de hecho, uno de los factores de riesgo lo constituye la historia familiar. Es interesante matizar la relación que podría existir entre la mitocondria y el Alzheimer. La mitocondria tiene como función suministrar ATP a las células y aquellas que constituyen el cerebro son las mayores consumidoras de energía.

Cabe esperar, por lo tanto, que un fallo -con base genética- en el funcionamiento normal de la mitocondria afecte al tejido neuronal y, además, sea transmitido a la siguiente generación. Si este error está relacionado con un haplogrupo específico y este último a su vez se distribuye de forma diferencial en la geografía, esperaríamos que el Alzheimer tuviese una incidencia geográfica diferencial.

Diferentes investigaciones han demostrado que existe una correlación entre el Alzheimer y el haplogrupo H (Wallace, 2016; r Krüger *et al.*, 2010), el cual se distribuye principalmente por Europa (Figura 1).

El objetivo de este trabajo es demostrar que efectivamente

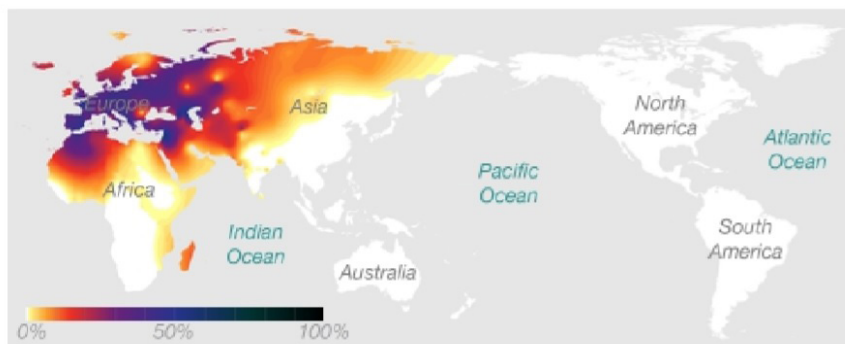


Figura 1: Mapa de la distribución mundial del haplogrupo H

te existe una subestructura poblacional mundial relacionada con los haplogrupos mitocondriales. Si esta afirmación es cierta se demuestra, directamente, que el Alzheimer tiene una distribución geográfica diferencial, preferentemente en Europa. Esta demostración debería tener importantes repercusiones en las estrategias de salud pública a nivel mundial.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se han descargado 70 mitogenomas completos de la página Human Mitochondrial Genome Database (mtDB) (<http://www.mtodb.igp.uu.se/>). Esta información se ha analizado mediante el uso de los siguientes softwares: Bioedit, DNAsp y Arlequín.

Se ha tratado que la secuencias representan gran parte de la diversidad geográfica mundial. Así, se han tomado 10 secuencias elegidas al azar procedentes de:

Europa occidental, Europa oriental, Asia oriental, Asia del Sur, África Central, África del Sur, Australia y Papúa Nueva Guinea. Estas se agruparon en: Europa (que contenía las secuencias procedentes de Europa occidental y Europa oriental), Asia (Asia oriental y Sudeste asiático), África (central y sur) y Oceanía (Australia y Papúa Nueva Guinea) - (Figura 2).

Una vez alineadas las secuencias mediante el programa Bioedit y realizadas las agrupaciones geográficas (DNAsp) se calculó una AMOVA (Análisis Molecular de la Varianza) mediante el programa Arlequín.

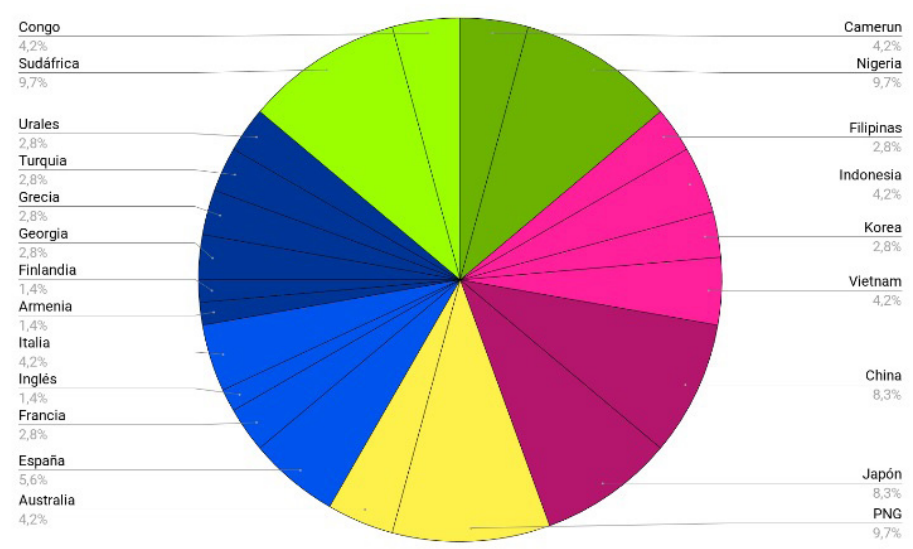


Figura 2: Mitogenomas utilizados en las AMOVAs, agrupados por macrorregiones geográficas. En gris el tanto por ciento de muestras procedentes de cada país con respecto al total.

3. RESULTADOS

Los resultados de aplicar la AMOVA se expresan en la Tabla 1.

Tabla 1: Resultado de la aplicación de la AMOVA al agrupar las muestras por poblaciones y macrorregiones geográficas (figura 2).

Nivel de agrupación	Diversidad expresada (%)	Índices de Fijación	p-valor
Dentro de las poblaciones	87,02	Fst = 0,129712	0,00000
Entre sub-poblaciones	4,58	Fsc = 0,05002	0,02248
Entre grupos	8,40	Fct = 0,08396	0,02151

4. DISCUSIÓN

Los resultados demuestran varios aspectos interesantes, en los distintos niveles de análisis:

Comenzando por la comparación entre individuos dentro de cada población -la escala más pequeña de análisis-, vemos que tenemos un valor de $F_{st} = 0,12977$ que se corresponde con el p-valor significativo ($=0,00000+0,00000$). Es el p-valor más bajo que encontramos (el más significativo) y por tanto habla de que la mayor variabilidad genética se encuentra dentro de las poblaciones (87,02%).

Siguiendo con la comparación entre poblaciones dentro de un mismo grupo o región, observamos una $F_{sc} = 0,05002$ y un p-valor que, aunque significativo ($=0,02248+0,00421$), es el que menor información aporta sobre la variabilidad que encontramos (4,58%).

Para terminar, la comparación entre grandes grupos da lugar a una $F_{ct} = 0,08396$ y un p-valor significativo ($=0,02151+0,00529$). Es este valor de significación positivo el que determina que existen regiones diferenciadas a escala global. Esto conlleva que efectivamente existen diferencias entre la región europea y otras regiones como África, Asia o Australia y Papúa Nueva Guinea. De ello se desprende que la mayor frecuencia de haplogrupo H en esta región, le confiere unas características que la diferencian de manera pausable del resto de regiones.

5. CONCLUSIÓN

Con los análisis realizados, queda corroborada la hipótesis de que existen diferencias significativas entre las grandes macrorregiones geográficas mundiales. Además, sabemos que el haplogrupo H se distribuye preferentemente en el continente europeo. Es decir, dado que el Alzheimer se asocia a este haplogrupo y éste a su vez se distribuye preferentemente en Europa –además difiere significativamente del resto de poblaciones del mundo- permite afirmar que esta enfermedad neurodegenerativa tendrá significativamente mayor incidencia en la región de Europa. Es un resultado muy importante ya que tiene una repercusión vital en los diseños de políticas de sanidad a nivel mundial.

Es decir, este trabajo pone de manifiesto que un aspecto importante en la gestión de los recursos públicos en el ámbito de la sanidad es reconocer, explorar y entender la composición y estructura de las poblaciones humanas.

BIBLIOGRAFÍA

- Anon. n.d. *Genetics: Mitochondrial DNA in evolution and disease..* [online] Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27383787> [Accessed 11 Mar. 2018].
- Krüger, J., Hinttala, R., Majamaa, K. and Remes, A. 2010. Mitochondrial DNA haplogroups in early-onset Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Molecular Neurodegeneration*. 5(1):8.
- Maruszak A, Canter JA Styczynska M, Zekanowski C, Barcikowska M. 2008. Mitochondrial haplogroup H and Alzheimer's disease- is there a connection?. *Neurobiol Aging*. 11:1749-55
- Taylor, R. and Turnbull, D. 2005. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Reviews Genetics*. 6(5): 389-402.
- Eupedia. 2018. *Haplogroup H (mtDNA)*. [online] Available at: https://www.eupedia.com/europe/Haplogroup_H_mtDNA.shtml [Accessed 14 Mar. 2018]

Actitudes sexuales en la población universitaria madrileña

Attitudes toward sexuality in undergraduates from Madrid

LUCÍA HERNÁNDEZ OROZCO Y NOEMÍ LÓPEZ NÚÑEZ

Facultad de Psicología, UCM

luciah06@ucm.es

Resumen: Las actitudes sexuales son un factor clave en la investigación sobre salud sexual. El presente estudio mide el efecto de diferentes variables en la dimensión erotofilia-erotofobia en la población universitaria madrileña, mediante la *Encuesta Revisada de Opinión Sexual (EROS)*. Los resultados muestran que las hipótesis establecidas en la literatura previa no pueden aplicarse por completo a nuestra muestra.

Palabras clave: erotofilia, erotofobia, sexualidad, estudiantes universitarios.

Abstract: Attitudes toward sexuality are a key variable for sexual health. The current study is a measure of the effect of different variables in the erotophobia-erotophilia continuum in undergraduates from Madrid, by using the *Encuesta Revisada de Opinión Sexual (EROS)*. The results show that the previously stated hypothesis cannot be fully applied to our sample.

Keywords: erotophilia, erotophobia, sexuality, undergraduates.

1. INTRODUCCIÓN

La actitud sexual es un estado de disposición mental, adquirido a través de la experiencia, que incluye, entre otras cosas, los conocimientos y el comportamiento de un sujeto ante la sexualidad (Sáez y Frago, 2015). Las implicaciones en la salud sexual son a menudo estudiadas a través de la erotofilia-erotofobia, pues está directamente relacionada con tres componentes: conductas de riesgo, función sexual y victimización sexual. Esto último ocurre durante la infancia y la adolescencia, por eso consideramos de interés

centrar nuestro estudio en población universitaria (Vallejo-Medina *et al.*, 2016).

Se han descrito diferentes maneras de medir esta variable: la primera de ellas es la conocida como Sexual Opinion Survey (SOS) (Fisher *et al.* 1988). En esta, las personas que obtenían puntuaciones altas, mostrarían actitudes sexuales de aceptación, mientras que las que obtenían puntuaciones bajas, experimentarían actitudes de miedo y culpabilidad. Sin embargo, en este trabajo, no se especificaba la orientación sexual de los participantes, sino que estaba orientada a heterosexuales. Para evitar sesgos relativos a las diferentes orientaciones sexuales, en el año 2013, se realizó una adaptación española, creándose y validándose la Encuesta Revisada de Opinión Sexual (EROS) (Del Río *et al.*, 2013).

El objetivo principal de esta investigación es estudiar las actitudes erotofílicas y erotofóbicas de la población universitaria madrileña. Para ello, se empleará la Encuesta Revisada de Opinión Sexual (EROS), ya que desde la creación de la encuesta SOS en el año 1988 hasta su renovación (EROS) en el año 2013, han tenido lugar numerosos procesos de globalización que han cambiado el modo de ver la sexualidad, lo que ha permitido una mayor tolerancia de todas las orientaciones sexuales entre los jóvenes (Cofré, 2014).

La literatura previa establece que existen diferentes variables (sexo, orientación sexual, religión, tamaño de la población e implicación en causas sociales) que influyen en las actitudes sexuales, por lo que nuestra hipótesis es comprobar si esas variables también influyen en la población universitaria madrileña.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Participantes

403 estudiantes de universidades madrileñas, de 18-22 años (media = 18,58 y SD = 0,87); 61,3% mujeres y 38,7% hombres. El 74,9% se definió como heterosexual, el 24, 6%, como homosexual o bisexual y el 0,5%, con una orientación sexual diferente. El 60,79% y el 39,2% vivió en zonas de más y menos de 150.000 habitantes, respectivamente. El 70,5% se consideró no creyente, el 21,6 % creyente y no practicante y el 7,9% creyente y practicante.

El 50,4% afirmó estar implicado en causas sociales y el 49,6% no.

2.2. *Instrumentos*

La Encuesta Revisada de Opinión Sexual (EROS) se presentó por Google Formularios a cada participante acompañada de un consentimiento informado, además de una encuesta sociodemográfica. Se contesta en una escala tipo Likert, de 1 (máximo desacuerdo) a 7 (máximo acuerdo), dando como lugar resultados que cubren el rango de 0 (personas más ertofóbicas) hasta 120 (personas más erotofílicas). La fiabilidad del test se midió con el coeficiente de Cronbach y se obtuvo un valor de 0,851 (Del Río *et al.*, 2013).

2.3. *Análisis de datos*

La muestra original de 427 se depuró eliminándose 24 casos (por encontrarse fuera del rango de edad o por no calificar todos los ítems). Los cálculos estadísticos se realizaron con *SPSS 22*: se calcularon los estadísticos descriptivos para el supuesto de normalidad, para contrastar las hipótesis de las variables constituidas por dos grupos se utilizó la prueba t de Student, mientras que para la variable *religión*, constituida por tres grupos, se empleó la prueba ANOVA de un factor de medidas independientes y efectos fijos.

3. RESULTADOS

Se calcularon los estadísticos descriptivos (media, desviación típica, asimetría y curtosis) de las puntuaciones en erotofilia en función de cada una de las variables independientes y grupos considerados. A continuación, se pidieron los correspondientes gráficos de caja y bigotes para valorar conjuntamente la forma de las distribuciones. La distribución de la variable erotofilia presentaba asimetría negativa en la mayoría de los grupos considerados. Si bien son pocos los valores de asimetría y curtosis fuera del rango entre -1 y +1 (Muthén y Kaplan, 1985) y el estadístico t es muy resistente al incumplimiento de la normalidad, se procedió a realizar una prueba no paramétrica (U de Mann-Whitney) para aquellas comparaciones en las que la forma de la distribución de las puntuaciones en erotofilia es muy diferente y/o no se cumple el supuesto de igualdad de varianzas, previamente calculado con el contraste de Levene (orientación sexual, tamaño de la población y causa social).

En el caso de la variable sexo, ambas distribuciones presentaban asimetría negativa, si bien ambas son muy similares y se cumple el supuesto de igualdad de varianzas.

Tabla 1. Resultados obtenidos en la prueba t de Student para aquellas variables independientes con dos niveles, así como el valor de la d de Cohen, que se utilizó para que todos los estadísticos fueran comparables dado que los resultados de las pruebas no paramétricas eran muy similares a los resultados de la prueba t.

	Media		t	gl	p (unilateral)	d de Cohen
Sexo	Hombre	86,960	0,463	401,000	0,3215	
	Mujer	86,210				
Orientación sexual	Heterosexual	83,850	-7,072	217,271	0,000	0,819
	Bisexual/Homosexual	94,620				
Tamaño de la población	Menos de 150.000 habitantes	87,000	0,514	401,000	0,304	
	Más de 150.000 habitantes	86,180				
Causa social	Sí está implicado/a	90,410	-5,187	366,215	0,000	0,517
	No está implicado/a	82,530				

Para contrastar la hipótesis de la variable religión, se realizó un ANOVA de un factor de medidas independientes y efectos fijos. Tras comprobar el incumplimiento del supuesto de homocedasticidad con el contraste de Levene ($p < 0,001$) se utilizó un estadístico robusto (Welch) para contrastar la hipótesis de igualdad de medias. A continuación, se realizaron las comparaciones múltiples *posthoc* para comprobar entre qué grupos existían diferencias significativas, utilizando el método de Games-Howell. Finalmente, se presenta el Eta al cuadrado parcial para estimar el tamaño del efecto. Como se puede observar un 20,4% de variabilidad de las puntuaciones en erotofilia está asociado a religión.

4. DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio han mostrado que no existen diferencias estadísticamente significativas según sexo y tamaño poblacional; pero sí según orientación sexual, religión e implicación en causas sociales.

Tabla 2. Contraste de hipótesis de variables independientes constituidas por tres niveles. Método de comparaciones múltiples *posthoc* de Games – Howell y Eta parcial al cuadrado.

Media Estadístico			Welch			p de Games - Howell	Eta al cuadrado parcial
			p				
Religión	No creyente	90,500	32, 487	0,000	No creyente/ no practicante	0,000	0,204
	Creyente y no practicante	80,790			No creyente/ practicante	0,000	
	Creyente y practicante	66,500			No practicante/ practicante	0,000	

Atendiendo a la variable *sexo*, nuestra hipótesis de partida era que los hombres serían, en promedio, más erotofílicos que las mujeres (Fisher *et al.* 1988; Geer y Robertson, 2005; Del Río *et al.*, 2013); sin embargo, nuestros resultados han mostrado que no existen tales diferencias. Esto podría explicarse atendiendo a propuestas que establecen que las encuestas más utilizadas reproducen un modelo masculino de sexualidad, ignorando componentes afectivos más propios de la sexualidad femenina (García Vega *et al.*, 2004; Sierra *et al.*, 2008).

Atendiendo a la variable *orientación sexual*, nuestra hipótesis de partida era que los homosexuales y bisexuales serían, en promedio, más erotofílicos que los heterosexuales, ya que existe evidencia previa de que los hombres y las mujeres con menor erotofobia demuestran actitudes positivas ante los homosexuales, mientras que los heterosexuales más homofóbicos muestran más rechazo hacia aspectos sexuales (Yarber y Yee, 1983). Además, en la validación del EROS (Del Río *et al.*, 2013), se encontró una jerarquía según la cual las personas más erotofílicas fueron las bisexuales y homosexuales y, en última instancia, las heterosexuales. Nuestros datos coinciden con estos resultados.

Atendiendo a la variable *religión*, nuestra hipótesis de partida era que los creyentes y practicantes iban a ser, en promedio, más erotofóbicos que los practicantes y estos últimos serían más erotofóbicos que los no creyentes. Una revisión de la literatura previa mostró que los estudiantes religiosos presentaban un peor conocimiento de salud sexual y eran más conservadores en actitudes relacionadas con el sexo que aquéllos sin afiliación religiosa (Wilson y Marindo, 1989). Además, los estudiantes cuya práctica religiosa es

diaria, tienden a ser más erotofóbicos que aquellos con una práctica más distribuida en el tiempo (Sierra *et al.*, 2008). Nuestros datos corroboran estas hipótesis, siendo los no creyentes los más erotofílicos y los más erotofóbicos los creyentes y practicantes.

Atendiendo a la variable *tamaño de la población*, nuestra hipótesis de partida era que las personas que han vivido la mayor parte de su vida en zonas más pobladas iban a ser más erotofílicas que aquellas que se habían criado en zonas menos pobladas. En estudios previos se ha establecido que las actitudes sexuales tienden a ser más liberales a medida que se incrementa el número de habitantes de una población (Reiss, 1967; Kinsey *et al.*, 1948, 1953). Sin embargo, nuestros datos reflejan que no existen tales diferencias. Esto podría explicarse porque las referencias que apoyan nuestra hipótesis datan de la mitad del siglo XX y, desde entonces han tenido lugar numerosos procesos que han cambiado el modo de ver la sexualidad en todo el mundo (Cofré, 2014).

Atendiendo a la variable *implicación en causas sociales*, nuestra hipótesis de partida era que las personas más implicadas en causas sociales (defensa de los derechos LGTBIQ, movimientos feministas, movimientos interraciales, etc.) iban a ser, en promedio, más erotofílicas que las que no estuvieran implicadas; ya que En la mayoría de las investigaciones se establece que las personas con ideologías políticas de izquierdas son más erotofílicas que las personas de derechas (McKelvey *et al.*, 1999; Del Río *et al.*, 2013). Sin embargo, las personas jóvenes no suelen tener, por lo general, una ideología política muy definida, por lo que en la realización del test no se preguntó a los participantes por su ideología y se enfocó más a su implicación en causas sociales, ya que estas últimas están más vinculadas a la izquierda (movimiento LGTBIQ Gámez, 2009; resurgimiento de movimientos feministas, Amorós y De Miguel, 2005; liberación de las minorías étnicas y raciales, Bozza, 2014). Nuestros resultados han demostrado que existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos, siendo las personas implicadas en causas sociales las más erotofílicas.

Para terminar, queremos destacar que, al finalizar el test, se les planteó a los participantes una pregunta abierta, en la que podían indicar si se habían sentido discriminados. Muchos participantes coincidieron en que el ítem 10 (“No me resulta incómoda la idea de sentir atracción física por personas de mi propio sexo”) está dirigido a personas heterosexuales, ya que la respuesta de una

persona homosexual o bisexual sería obvia. En nuestra opinión, aunque el EROS se diseñó para evitar sesgos positivos hacia los heterosexuales, en este ítem claramente, ha ocurrido lo contrario: las personas heterosexuales obtendrán siempre puntuaciones menores, por lo que sigue habiendo un sesgo presente, en esta ocasión, negativo hacia ellas.

5. CONCLUSIONES

Nuestros datos muestran las actitudes sexuales de una muestra amplia de estudiantes universitarios madrileños, refutándose algunas hipótesis previas, pero rechazando otras. Esto da pie a pensar que en la población universitaria se debe reelaborar la encuesta actual, ya que aún presenta ciertos sesgos que no se ajustan a la realidad de nuestra muestra.

BIBLIOGRAFÍA

- Abernathy J.T., E.I. Robinson, O.J. Balswick and K. King. 1979. A comparison of the sexual attitudes and behavior of rural, suburban and urban adolescents. *Adolescence*. 14(54): 289-295.
- AMALTEA. Instituto de sexología y psicoterapia. (2007). *Las actitudes hacia la sexualidad*. Zaragoza, España. <http://www.amaltea.org/content/news/27/actitudes.pdf> (acceso 2007)
- Amorós C. y A. de Miguel. 2005. *Teoría feminista: de la Ilustración a la globalización*. (Vól. II). Minerva. 352 pp.
- Jornadas de Sociología de la UNLP. (2014) Bozza J. A. *Del campus a las calles. La nueva izquierda norteamericana: Singularidades y analogías con las experiencias latinoamericanas*. http://www.memoria.fahce.unlp.edu.ar/trab_eventos/ev.4336/ev.4336.pdf (acceso 2014).
- Cofré B. 2014. *Sexualidad y autocuidado en jóvenes de la ciudad de Antofagasta en un contexto de transformaciones culturales*. Forum: Qualitative Social Research. 15(3): art. 17. doi/10.17169/fqs-15.3.2112
- Fisher W. A., L. A. White, D. Byrne and K. Kelley. 1988. Erotophobia – erotophilia as a dimension of personality. *The Journal of Sex Research*. 25(1): 123-151. doi: 10.1080/00224498809551448
- Gámez C.A. (2008). *Logros y desafíos del movimiento LGBT de Bogotá para el reconocimiento de sus derechos Una mirada desde la acción colectiva, las estructuras de oportunidad y la política cultural*. Pontificia Universidad Javeriana. <http://hdl.handle.net/10554/7875> (acceso 2009).
- García E., P. Fernández y R. Rico. 2004. The Sexual Opinion Survey. Revisión de las características psicométricas transcurrida una década desde su traducción. *Metodología de las Ciencias del Comportamiento*. Volumen especial: 273-279.
- Geer J. and G. G. Robertson. 2005. Implicit attitudes in sexuality: Gen-

- der differences. *Archives of Sexual Behavior*. 34: 671-677. doi: 10.1007/s10508-005-7923-8
- Kinsey A.C, W. Pomeroy and C. E. Martin. 1948. *Sexual Behavior in the human male*. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 804 pp.
- McKelvey R.S., J.A. Webb, L.V. Baldassar, S.M. Robinson and G. Riley. 1999. Sex knowledge and sexual attitudes among medical and nursing students. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*. 33(2): 260- 266. doi: 10.1046/j.1440-1614.1999.00549.x
- Muthén B. and D. Kaplan. 1985. A comparison of some methodologies for the factor analysis of non- normal Likert variables. *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology*. 38(2): 171-189. Doi: 10.1111/j.2044-8317.1985.tb00832.x
- Reiss. I. L. 1967. *The Social Context of Premarital Permissiveness*. Alemania. Nueva York, publicado por: Holt, Rinehart and Winston. 256 pp.
- Río F. J. del, D. J. López y F. Cabello. 2013. Adaptación del cuestionario Sexual Opinion Survey: Encuesta Revisada de Opinión Sexual. *Revista Internacional de Andrología*. 11(1): 9-16. doi:10.1016/j.androl.2012.09.003
- Sierra J.C., V. Ortega, J.R. Gutiérrez-Quintanilla. 2008. Encuesta de Opinión Sexual: Fiabilidad, validez y datos normativos de una versión reducida en muestras salvadoreñas. *Revista Mexicana de Psicología*. 25(1):139-150. redalyc: articulo.oa?id=243016300011
- Sümer Z.H.2015. Gender, Religiosity, Sexual Activity, Sexual Knowledge, and Attitudes Toward Controversial Aspects of Sexuality. *Journal of Religion and Health*. 54(6): 2033-2044. doi: 10.1007/s10943-014-9831-5
- Vallejo – Medina P, L. Marchal-Bertrand, M. Gómez-Lugo, J. P. Espada, J.C Sierra, F. Soler and A. Morales. 2016. Adaptation and Validation of the Brief Sexual Opinion Survey (SOS in a Colombian Sample and Factorial Equivalence with the Spanish Version. *PlosOne*. 11(9). doi: 10.1371/journal.pone.0162531
- Wilson D. and R. Marindo. 1989. Erotophobia and contraception among Zimbabwean students. *Journal of Social Psychology*. 129(5): 721-723. doi: 10.1080/00224545.1989.9713795
- Yarber W. L. and B. Yee. 1983. Heterosexuals' attitudes towards lesbianism and male homosexuality: Their affective orientation toward sexuality and sex guilt. *Journal of the American College Health Association*. 31: 203-208. doi: 10.1080/07448481.1983.9939558

Obturación endodóntica contrastada o prometedora con cementos bioactivos. ¿Y si el paciente es “mi padre”?

promising bioceramic versus demonstrated obturation in endodontics. what if the patient is “my father”?

ÁNGEL HERRERA MARTÍN¹, MAGDALENA AZABAL ARROYO¹ Y
ANA ARIAS PANIAGUA².

1. Facultad de Medicina, Universidad San Pablo CEU

2. Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid
aherreramartin@gmail.com

Resumen: Se presenta a continuación un caso clínico de endodoncia de un segundo molar inferior izquierdo, obturado con un cemento a base de silicato tricálcico en un paciente con pulpitis aguda debido a una fisura vertical. El objetivo del trabajo es revisar a lo largo del caso qué nos dice la literatura y cómo los cementos biocerámicos pueden suponer una alternativa a las técnicas de obturación convencionales.

Palabras clave: Endodoncia, fisura, silicato tricálcico, cemento biocerámico.

Abstract: We present a clinical case of a root canal treatment performed on a left mandibular second molar, obturated with a novel tricalcium silicate cement on a patient with irreversible pulpitis due to a vertical crack. The purpose of this work is to examine through the case what literature says and how bioceramic cements can become an alternative to conventional obturation techniques.

Key words: Endodontics, cracked tooth, tricalcium silicate, bioceramic cement.

1. INTRODUCCIÓN

La obturación en endodoncia tiene como objetivos prevenir y tratar las enfermedades relacionadas con el complejo dentinopulpar (Torabinejad, 2015). Los avances tecnológicos de la última

década han supuesto cambios significativos en la manera en que diagnosticamos, instrumentamos, desinfectamos y obturamos los conductos radiculares. Históricamente, una de las grandes dificultades en endodoncia a la hora de realizar un tratamiento ha sido la obturación del conducto radicular (Trope, 1995). A continuación, se expone un caso instrumentado y desinfectado siguiendo las recomendaciones actuales pero que, a diferencia de las técnicas de obturación modernas (Schilder, 2006) se obturó mediante cementos biocerámicos con nanopartículas de silicato tricálcico (Nasseh, 2014).

2. CASO CLÍNICO

Presentamos el caso de un paciente de 55 años sin antecedentes médicos de interés que acude por dolor intenso, constante e irradiado por todo el segundo y tercer cuadrante. En la inspección clínica se observa una fisura que recorre todo el surco mesiodistal del diente 37 (Figura 1). A la exploración, se observan desgastes y facetas en el resto de los dientes compatibles con hábitos parafuncionales del tipo de bruxismo o apretamiento dentario. Realizamos sondaje periodontal, percusión y pruebas de sensibilidad pulpar con cloruro de etilo ENDO-ICE® (Coltene, Switzerland) como pruebas complementarias y diagnosticamos pulpitis irreversible. En la radiografía de diagnóstico no se aprecian signos de afectación pulpar más allá de una leve inflamación del ligamento periodontal.



Figura 1: Fotografía intraoral especular.

Procedemos a realizar la endodoncia, previa anestesia (Articaína 2% 1: 100 000) y aislamiento absoluto con dique de goma Nic Tone® (MDC Dental, Mexico). Tras la apertura, pudimos confirmar la fisura hasta cámara pulpar mediante visualización

directa con magnificación 3,5X. Este dato empeora el pronóstico del diente, a pesar de que algunos autores afirman que se pueden alcanzar porcentajes de éxito en el tratamiento ortógrado hasta del 82% (Krell, 2018).

Se realizó la endodoncia en una cita. Tras la apertura (Figura 2) y localización de los conductos, se determinó la longitud de trabajo con el localizador Pixi® (Dentsply, USA) y se confirmó radiográficamente. Los conductos radiculares fueron instrumentados con limas R-Pilot® (VDW, Germany) y RECI-PROC Blue® (VDW, Germany) siguiendo la secuencia que aconseja el fabricante, con el motor XSmart iQ® (Dentsply, USA). Se



Figura 2: Apertura

irrigó con hipoclorito de sodio al 5,25% entre limas y se confirmó patency apical en todo momento. El protocolo de irrigación final se realizó activando hipoclorito de sodio 5,25% y EDTA 17%, mediante dos sistemas de activación sónicos: sistema EDDY® (VDW, Germany) en las raíces MV y ML y Gentlefile® (MedicNRG, Israel) en la raíz distal. Finalmente se utilizó suero fisiológico para neutralizar el EDTA 17%. Tras la irrigación y secado de los conductos radiculares, se procedió a obturar con una técnica hidráulica (Nasseh, 2014) para la que se utilizó gutapercha RECIPROC® (VDW, Germany) y el cemento biocerámico Totalfill® (FKG, Switzerland). Para ello, el cemento en fórmula premezclada, se inyecta en el interior del conducto en los dos tercios coroneales y se dirige apicalmente con el cono estandarizado. A continuación, se confirma radiográficamente su posición y se corta coronalmente con calor. La cámara pulpar fue sellada inmediatamente, una vez eliminados los restos de cemento, con SDR® (Dentsply Sirona) y el diente rebajado de oclusión.

Posteriormente fue tallado para la realización de una endocorona CeraSmart® (GC, Japan), se tomó una impresión de silicona Virtual Putty® (Ivoclar, Switzerland) y se colocó en la cita siguiente (Figuras 3-4). Teniendo en cuenta los hábitos parafuncionales del paciente y el motivo de la consulta, se hizo especial hincapié en la oclusión del diente endodonciado (Figuras 5-6) tanto en oclusión habitual como en las distintas excursiones mandibulares, así como en la concienciación del paciente y la recomendación de una férula de descarga.

3. DISCUSIÓN

Los cementos biocerámicos a base de silicato tricalcico no son refrendados aún por la evidencia científica dado que no llevan el suficiente tiempo en el mercado como para poder avalarlos clínicamente. Aun así, ya múltiples estudios *in vitro* nos invitan a pensar que pueden ser una alternativa viable a los cementos actuales. Sus propiedades fisicoquímicas los convierten en un material ideal de obturación (Al-Haddad, 2016). Son altamente biocompatibles (Zhang, 2010), hidrofílicos y presentan baja citotoxicidad comparado con las resinas actuales (Kebudi *et al.* 2017). Además, presentan gran acción antimicrobiana (Zhang, 2010; Kapralos, 2018) y son capaces de adherirse a dentina (Zhang 2009; Nagas *et al.* 2011; Jeong, 2017). Sin embargo, pueden presentar un inconveniente a la hora de su manejo clínico y es la imposibilidad de usar técnicas de gutapercha termoplástica, ya que



Figura 3: Tallado Endocrown

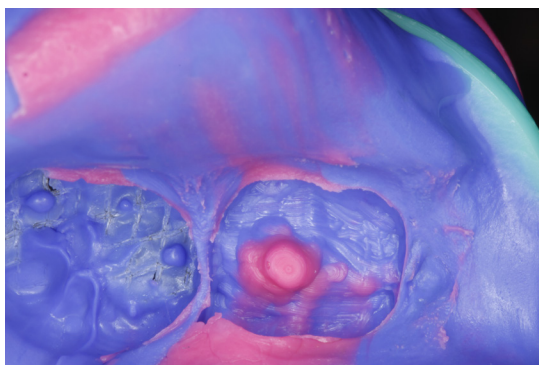


Figura 4: Toma de impresión



Figura 5: Radiografía diagnóstica

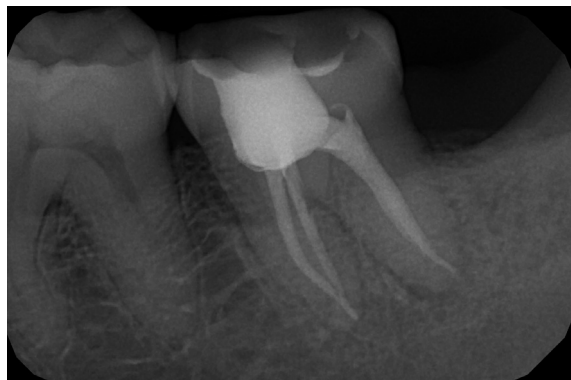


Figura 6: Radiografía final

el calor parece afectar a sus propiedades físico-mecánicas. Por ello, hoy por hoy, el “*Gold Standard*” en obturación sigue siendo la condensación vertical mediante ola continua de calor por encima de técnicas convencionales (Peng, 2007). Aun así, con la llegada de los cementos biocerámicos se descubren indudablemente nuevas posibilidades al obturar. Gracias a los nuevos sistemas de instrumentación y estandarización de gutaperchas parece que la utilización de un cono único podría conseguir un ajuste óptimo a lo largo de todo el conducto que, compactando hidráulicamente el biocerámico contra las paredes y conductillos laterales del diente, obtura tridimensional-

mente el sistema de conductos y forma un muro infranqueable frente al biofilm bacteriano. Tanto es así que el papel de la gutapercha quedaría relegado a un segundo plano, siendo solamente utilizada como *carrier* del cemento obturador/sellador y como vía de retratamiento. (Hess, 2011; Ersev *et al.* 2012; Hyunsuk, 2015). A pesar de todo, en la actualidad no hay aún estudios clínicos que demuestren su éxito a corto, medio o largo plazo; por ello, su incorporación a la clínica debe hacerse con mucha cautela. De hecho, una revisión sistemática de estudios *in vitro* al respecto publicada recientemente concluye que, en general, los resultados demostrados tanto *in vitro*

como en estudios animales *in vivo* muestran propiedades similares o mejores que los selladores convencionales; pero que hay una falta de ensayos clínicos bien diseñados para poder anticipar los resultados a esperar en una situación clínica (Silva Almeida 2017).

No es la primera vez que se intenta reemplazar la gutapercha como material de obturación principal de los conductos radiculares. El máximo exponente lo supuso Resilon® (SybronEndo, USA), un polímero a base de vidrios bioactivos y óxido de bismuto. De la misma forma que con los biocerámicos, los estudios *in vitro* demostraron buenas propiedades, destacando su capacidad de adhesión a dentina. Teóricamente, esto favorecía un sellado hermético del sistema de conductos frente a la falta de adhesión que presentaba la gutapercha. Sin embargo, diez años después de su aparición fue eliminado de mercado al observarse la alta tasa de fracaso comparado con las técnicas de obturación convencionales (Barboka, 2017).

Precisamente por casos como este debemos extremar las precauciones hasta que la evidencia científica pruebe lo contrario. En este caso clínico, se decidió utilizar la técnica de obturación hidráulica con cemento biocerámico por varios motivos. Teniendo en cuenta que la alternativa era la exodoncia, el paciente aceptó intentar salvar el diente. Al tratarse de un diente debilitado por una fisura consideramos que era la técnica menos traumática, dado que se realiza mucha menos fuerza contra las paredes que en las técnicas de condensación, reduciendo así las posibilidades de agravar la misma. Además, su capacidad osteogénica, que favorece la remineralización y proliferación de células madre del diente, lo hace un material ideal en un caso desfavorable como este.

En definitiva, la endodoncia es el tratamiento de elección en pacientes que acuden a la consulta con pulpitis irreversible. Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones esta está ocasionada por una caries que llega a afectar a la pulpa del diente. En el caso clínico descrito el motivo de la pulpitis es la fisura, acrecentada por el patrón abrasivo tan característico de pacientes apretadores. Este caso clínico lleva poco tiempo de evolución y, aunque se encuentra asintomático y totalmente funcional, necesita de controles posteriores para poder afirmar que ha sido un éxito.

4. CONCLUSIÓN

Los cementos biocerámicos de obturación en endodoncia no están aún avalados clínicamente por la evidencia científica. Sin em-

bargo, los estudios in vitro demuestran que sus propiedades son muy superiores a la de los cementos disponibles en la actualidad. Por tanto, más evidencia clínica a largo plazo es necesaria para poder sacar conclusiones sobre su potencial uso como sustituto de las técnicas y materiales actuales.

BIBLIOGRAFÍA

- Almeida S *et al.* 2017. Are Premixed Calcium Silicate-based Endodontic Sealers Comparable to Conventional Materials? A Systematic Review of In Vitro Studies. *J Endod.* 43(4):527-535. doi: 10.1016/j.joen.2016.11.019.
- Al-Afaf Al-Haddad, Zeti A. Che Ab Aziz. 2016. Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. *Int J Biomater.* 2016:9753210. doi. org/10.1155/2016/9753210
- Barborka B *et al.* 2017. Long-term Clinical Outcome of Teeth Obturated with Resilon. *J Endod.* 43(4):556-560. doi: 10.1016/j.joen.2016.12.005.
- Ersev H, Yilmaz B, Dinco M, Daglaroglu R. 2012. The efficacy of ProTaper University rotary retreatment instrumentation to remove single gutta-percha cones cemented with several endodontic sealers. *Int Endod J.* 45(8):756-62. doi: 10.1111/j.1365-2591.2012.02032.x
- Hess D *et al.* 2011. Retreatability of a Bioceramic Root Canal Sealing Material. *J Endod.* 37(11):1547-9. doi: 10.1016/j.joen.2011.08.016
- Hyunsuk K, Euseong K, Seung-Jong L, Su-Jung S. 2015. Comparisons of the Retreatment Efficacy of Calcium Silicate and Epoxy Resin-based Sealers and Residual Sealer in Dentinal Tubules. *J Endod.* 41(12):2025-30. doi: 10.1016/j.joen.2015.08.030
- Jeong Ji Wook *et al.* 2017. Dentinal Tubule Penetration of a Calcium Silicate-based Root Canal Sealer with Different Obturation Methods. *J Endod.* 43(4):633-637. doi: 10.1016/j.joen.2016.11.023.
- Kapralos, Vasileios *et al.* 2018. Antibacterial Activity of Endodontic Sealers against Planktonic Bacteria and Bacteria in Biofilms. *J Endod.* 44(1):149-154. doi: 10.1016/j.joen.2017.08.023.
- Kebudi Benezra, Mira *et al.* 2017. Interfacial Characteristics and Cyto-compatibility of Hydraulic Sealer Cements. *J Endod.* 44(6):1007-1017. doi: 10.1016/j.joen.2017.11.011.
- Koch K, Brave D. 2009. A new day has dawned: The increased use of bioceramics in endodontics. *Dent.* 10: 39-43.
- Koch K, Brave D. 2009. Bioceramic technology – the game changer in endodontics. *Endodontic Practice*, 2(2):17-21
- Krell, Keith V. *et al.* 2018. 12-month Success of Cracked Teeth Treated with Orthograde Root Canal Treatment. *J Endod.* 44(4):543-548. doi: 10.1016/j.joen.2017

- Nagas E, Uyanik MO, Eymirli A, Cehreli ZC, Vallittu PK, Lassila LVJ, Durmaz V. 2011. Dentin moisture conditions affect the adhesion of root canal sealers. *J Endod.* 38(2):240-4. doi: 10.1016/j.joen.2011.09.027
- Nasseh A, Brave D. 2014. Why do we do what we do? A new standard of efficiency in instrumentation and obturation. *Dentistry Today.* 33(10):112-117.
- Peng, Li *et al.* 2007. Outcome of Root Canal Obturation by Warm Gutta-Percha versus Cold Lateral Condensation: A Meta-analysis. *J Endod.* 33(2):106-9.
- Schilder, Herbert. 2006. Filling Root Canals in Three Dimensions. *J Endod.* 32(4):281-90. doi: 10.1016/j.joen.2006.02.007
- Torabinejad M, Walton R. 2008. *Endodontics: Principles and practice.* USA. Saunders, Elsevier.
- Trope M, Ray H. 1995. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J.* 28(1):12-8.
- Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. 2009. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against enterococcus faecalis. *J Endod.* 35(7):1051-5. doi: 10.1016/j.joen.2009.04.022.
- Zhang W, Li Z, Peng B. 2010. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. *Int Endod J.* 43(9):769-74. doi: 10.1111/j.1365-2591.2010.01733
- Zhang W, Li Zhi, Peng, B. 2010. Effects of iRootSP on Mineralization-related Genes Expression in MG63 Cells. *J Endod.* 36(12):1978-82. doi: 10.1016/j.joen.2010.08.038.

Revisión Teórica de la Inteligencia y sus Implicaciones Socioeducativas

A Theoretical Review of Intelligence and its Socio-educational Implications

MANUEL IGLESIAS SOILÁN Y

DANIEL ENGUÍDANOS VANDERWEYEN

Facultad de Psicología – Universidad Complutense de Madrid

Tutor: Juan Fernández Sánchez

Resumen: La inteligencia es un concepto muy reciente en la historia humana, que usamos para intentar describir una (o varias) capacidades mentales relacionadas principalmente con la resolución de problemas. Sin embargo, sigue siendo difícil a día de hoy encontrar consenso en su significado: sin ir más lejos, la Real Academia Española tiene ocho acepciones para la palabra inteligencia. Esta dificultad de definición proviene, en gran parte, de que, desde los principios de su formulación, han existido simultáneamente teorías que mantienen ideas incompatibles, y ninguna consigue dar cuenta de todos los factores mensurables o influyentes en la inteligencia. Más adelante, se hablará del debate entre el peso de la herencia frente al ambiente en la ontogenia de la inteligencia; de la consideración de un factor unitario que subyace a todas las aptitudes frente a un conjunto de factores relativamente independientes; y de la necesidad de modelos que tengan en cuenta las necesidades de la sociedad frente a la aproximación puramente empírica del estudio de la inteligencia. Se buscará respuesta a las siguientes preguntas: ¿es el CI una herramienta adecuada para medir la inteligencia?, ¿existen alternativas en la actualidad?, ¿qué efectos ha tenido el estudio de la inteligencia sobre la sociedad y las personas? Y, por último, ¿qué se puede hacer para mejorar la situación?

Palabras Clave: inteligencia, educación, teorías, estigmatización, revisión

Abstract: Intelligence is a very recent concept in human history, used to define one (or more) mental abilities related mainly to problem solving. Nevertheless, it is still difficult to find consensus on its definition: for example, the Real Academia Española has eight different meanings for it. Problems defining intelligence come mainly from the fact that, since it has

been defined, there have been incompatible theories coexisting, none of which has ever been able to measure and explain all relevant factors in its study. Debates between genetics and environment on the development of intelligence, between considering a unitary factor (g) underlying all mental abilities and a collection of relatively independent factors, and about the need for theories that take into account social needs instead of a purely empirical approach to the study of intelligence will be explored. Giving answers to the following questions will be attempted: is IQ an adequate tool to measure intelligence? are there currently any alternatives? what effects has the study of intelligence had on society and people? and finally, what can be done to make the situation better?

Key Words: intelligence, education, theories, stigmatization, review

1. INTRODUCCIÓN

La primera figura relevante en el estudio de la inteligencia fue Galton, el ilustre primo de Darwin. Se interesó principalmente por los procesos sensoriales y mentales, estimando variables psicofísicas (tiempo de reacción, agudeza visual, umbrales de percepción, etc.), considerando que la inteligencia dependía puramente de la genética, y que era por lo tanto inmodificable (Mérida y Jorge, 2007). Asemejaba la heredabilidad y el desarrollo de los rasgos psicológicos a lo que ocurría con los rasgos físicos, y propuso la eugenesia como herramienta para mejorar las capacidades intelectuales humanas (Galton, 1869). Posteriormente, Binet desarrolló su concepto de inteligencia más centrado en los productos que en los procesos mentales. Se publicó la escala Binet-Simon en 1905 con posteriores revisiones hasta la actualidad (la última en 2002), acuñando el término de Edad Mental (EM). Sirvió inicialmente como herramienta para diferenciar a niños con capacidades por debajo de lo normal en el sistema educativo francés, para llevar a cabo un programa de mejora intelectual (por lo que Binet, al contrario que Galton, consideraba que la inteligencia era maleable). Tras ser difundida, Terman y su equipo, de la Universidad de Stanford, revisaron y modificaron la escala de Binet-Simon adaptándola para los EE.UU. (Terman, 1916). Mientras, Stern (1911) describió por primera vez el famoso concepto de Cociente Intelectual (CI), que ponía en relación la EM de Binet-Simon con la Edad Cronológica (EC), siguiendo la fórmula $CI = EM / EC * 100$.

Paralelamente, Spearman (1904) desarrolló su teoría bifactorial de la inteligencia, partiendo de la siguiente hipótesis: “Si dos habilidades intelectuales correlacionan positivamente, dependen

de un factor común”. Determinó un Factor General (g) que influyó a muchas teorías posteriores, y una serie de Factores Específicos (s).

En contraposición, Thurstone (1938) defendió una teoría multifactorial de la inteligencia (Aptitudes Mentales Primarias), describiéndola como un conjunto de aptitudes relativamente independientes (aptitud numérica, rapidez perceptiva...). Con estas bases, han seguido desarrollándose teorías psicométricas (o factoriales) hasta la actualidad.

Se diferenciaron dos ramas: las teorías jerárquicas (p.e., Burt, Vernon), que parten del supuesto de que la inteligencia se compone de elementos interrelacionados y organizados en estratos jerárquicos, y las no jerárquicas (p.e., Thurstone, Guilford), que ponen todos los elementos al mismo nivel, y pueden ser relativamente independientes. De entre los avances más importantes en este campo, cabe destacar el desarrollo de los conceptos de Inteligencia Fluida (Gf) e Inteligencia Cristalizada (Gc) por Cattell (1941, 1963) y, más tarde, por Horn (1965). Es especialmente interesante al dar un fuerte peso al ambiente (del que depende la Gc), sin olvidar la gran importancia de la herencia (de la que depende la Gf), uniendo las ideas opuestas que se mantenían desde Galton y Binet acerca de la procedencia y maleabilidad de la inteligencia con un modelo más integrador, gozando por fin de la suficiente evidencia empírica para respaldarlo. Con este modelo, Cattell rompe con el determinismo genético mantenido hasta entonces.

Posteriormente, Carroll presenta su teoría de los tres estratos, muy similar a la de Cattell-Horn, de la cual dice que “parece ofrecer el enfoque mejor fundamentado y razonable hacia una teoría de la estructura de las habilidades cognitivas” (1993). Acabaron unificándose ambos modelos, dando lugar al actual CHC.

Sin embargo, las teorías psicométricas tienen una gran carencia: se limitan a estudiar los productos del intelecto, ignorando los procesos subyacentes.

Dentro de las teorías no factoriales (que no plantean un factor g, aunque no niegan su existencia), podemos diferenciar dos grandes enfoques: uno más centrado en la estructura (Piaget) y otros más dedicados al estudio de los procesos (Gardner y Sternberg).

Piaget ve la inteligencia como una estructura cognitiva constituida por un conjunto de esquemas y subesquemas, afirmando que el conocimiento no es una copia del mundo, como postula -entre

otros- el conductismo. Para él, el sujeto que aprende no es pasivo. Aprender es un procedimiento activo, que funciona mediante la combinación y contraposición de hechos y conceptos, proviniendo respectivamente de la realidad y de la mente (Román y Díez, 2009).

Piaget tiene impacto en la educación, ya que pasa a entenderla como desarrollo de estructuras cognitivas (lo refleja en su obra “A dónde va la educación” en 1978). Para Piaget (1964) el principal objetivo de la educación es crear hombres que sean capaces de hacer cosas nuevas, no simplemente repetir lo que han hecho otras generaciones: hombres creativos, inventivos y descubridores (Román y Díez, 2009). Su opinión contrasta fuertemente con el sistema educativo muy mecanicista que sigue manteniéndose hoy en día y que, a pesar de garantizar un “desarrollo integral”, es excesivamente carente e incluso restrictivo en cuanto al desarrollo de habilidades esenciales, como la creatividad, la autonomía, o la gestión emocional.

Por otro lado, la esencia de la teoría de las aptitudes básicas de Thurstone fue recuperada 50 años más tarde por Gardner y su Teoría de las Inteligencias Múltiples (1995, 2011, 2016). Este último entiende la inteligencia, o mejor dicho las inteligencias, como un conjunto de habilidades, talentos y aptitudes relativamente independientes que pueden funcionar conjuntamente, y pueden ser desarrolladas. Su idea surgió al ver que el CI (o escalas similares), a pesar de su alta fiabilidad y utilidad razonable, suponía limitaciones severas: sólo considera la inteligencia relativa al razonamiento matemático y a la capacidad verbal. El CI no da cuenta de cosas que nadie dudaría en calificar como genialidad, como el talento de algunas personas para la música, el arte, el deporte o la gestión emocional, por mencionar algunas. ¿Acaso los autores de obras como la Capilla Sixtina, el David, Romeo y Julieta y la Sinfonía del Nuevo Mundo deberían remitirse al CI para poder considerarse prodigiosos?

Se critica a Gardner por utilizar una definición de inteligencia diferente a la clásica: lo que él considera inteligencia es lo que comúnmente se conoce como aptitudes, en vez de una capacidad para resolver problemas y adaptarse al entorno. Gardner añade a la definición de inteligencia que ésta ayuda a elaborar productos de gran valor para un determinado contexto (Gardner, 1995). Este problema parece ser terminológico, ya que una persona con bajo CI es vulgarmente conocida como “tonta”, pero si destaca en una

de las inteligencias descritas por Gardner, nadie dudaría en considerarla un genio. No son opciones pues mutuamente exclusivas, pero la terminología que permitiría su coexistencia es incompatible. Por lo tanto, la definición de Gardner ofrece una visión más coherente con el reconocimiento del talento en cualquiera de sus formas, y responde a la necesidad social de no estigmatizar por CI. Obviamos la moralidad de la utilización del CI, ya que no puede culparse a la herramienta del uso que se ha hecho de ella, y en ningún momento se considera que no sea útil. A día de hoy, la teoría de Gardner no goza del mismo apoyo estadístico que las teorías psicométricas, pero no por ello es acientífica. Además, tiene base neurobiológica: todas las inteligencias pueden ser afectadas individual e independientemente por daños cerebrales específicos (Gardner, 2011).

Una teoría complementaria a las Inteligencias Múltiples es la Teoría Triárquica de la Inteligencia de Sternberg. Él define la inteligencia como: «actividad mental dirigida hacia la adaptación intencional, selección o transformación de entornos del mundo real relevantes en la propia vida» (Sternberg, 1985). Se centra específicamente en los procesos cognitivos y analiza cómo los utilizan las personas para resolver los ítems de los test de CI (Sternberg, 1985). Identifica 3 subteorías: componencial (analítica), experiencial (creativa) y contextual (práctica). Es el primero en dar cuenta de la creatividad como un componente fundamental de la inteligencia, ya que el CI no guarda relación con ella (Gardner, 2011).

En la misma línea que Gardner, Sternberg (1990) defiende que no es tan importante el potencial intelectual, sino la aplicación y mejora de éste: Sternberg y Davidson (1989) elaboran la Teoría de los 4 pasos, un programa para desarrollar la inteligencia práctica en la escuela mediante la orientación, solución de problemas intra e inter grupos y solución individual de problemas.

Por último, el enfoque sociocultural defiende que los padres, cuidadores e iguales son ampliamente responsables del desarrollo de los procesos psicológicos superiores. Vygotsky (1978), el principal adalid de este enfoque, dice en su teoría sociohistórica que el aprendizaje tiene su base en la interacción con los demás: “Cada función en el desarrollo cultural del infante aparece dos veces: primero, a nivel social, y más tarde, a nivel individual; primero, entre personas (interpsicológico) y después dentro del propio niño (intrapsicológico). Esto también se aplica a la atención voluntaria, a la

memoria lógica, y a la formación de conceptos. Todas las funciones superiores se originan como relaciones entre individuos.”

Además, Vygotsky aporta el concepto de Zona de Desarrollo Próximo (ver Figura 1) que define como: “la distancia entre el nivel de desarrollo actual determinado por resolución de problemas independiente y el nivel de desarrollo potencial determinado por

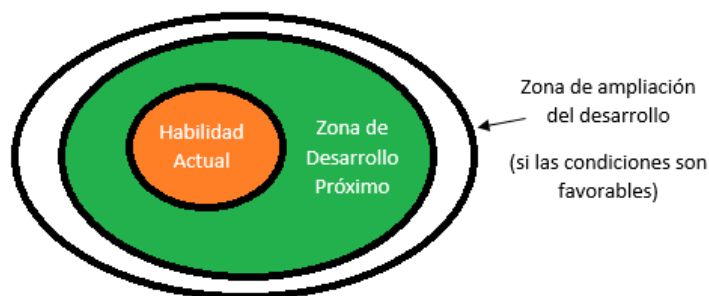


Figura 1. Diagrama del concepto de la Zona de Desarrollo Próximo de Vygotsky.

la resolución de problemas guiada por adultos o por un igual más capacitado”.

Por su parte, Feuerstein propone la Teoría del Interaccionismo Social que aporta un enfoque más práctico a la visión de Vygotsky. Nacen de ella la Evaluación del Potencial de Aprendizaje -LPAD- (Feuerstein, Kelin y Tannenbaum, 1991) y la mejora de dicho potencial con el Programa de Enriquecimiento Instrumental -PEI- (Feuerstein y Jensen, 1980). Estos dos programas reflejan la aportación de las teorías socioculturales a la educación: técnicas de mediación para la mejora del aprendizaje y la inteligencia.

2. DISCUSIÓN

Se han descrito una gran cantidad de teorías con diversos enfoques y es indudable que cada una, en mayor o menor medida, ha aportado un avance relevante en el estudio de la inteligencia, ya sea a nivel de medición, concepto, o desarrollo. El mismo Gardner (2011) dice que no cree que vaya a haber jamás una sola teoría capaz de explicar la inteligencia: puede ser estudiada de tantas ma-

neras y hay tantas cosas que considerar al respecto, que un modelo unitario parece imposible.

Las teorías psicométricas han aportado una herramienta de medida extraordinaria, teniendo en cuenta la dificultad de medir variables psicológicas. Sin embargo, no puede decirse que esa medida (el CI) englobe todos los elementos necesarios para determinar si una persona es o no inteligente. Las teorías cognitivas han buscado una solución a este problema, abriendo el campo de estudio de la inteligencia más allá de lo lógico-matemático y la fluidez verbal, abogando por la existencia de múltiples inteligencias, o distintas formas de expresar la inteligencia, que no se ven representadas en la medida del CI. Además, los modelos psicométricos no tienen en cuenta el posible desarrollo ontogénico de la inteligencia, y ofrecen una clasificación del intelecto individual que se considera relevante a pesar de que obvia aspectos fundamentales en la valoración de una persona, y permite una estigmatización social basada en la evaluación, ya sea académica o psicológica. Social y humanamente, no es aceptable etiquetar a las personas en función de algo tan incompleto (aunque evidentemente fiable).

Por otra parte, los modelos cognitivos y socioculturales tratan de dar solución a estos problemas: el conceptual y el del desarrollo de técnicas que explican y fomentan la mejora intelectual.

Acerca de la existencia de un factor unitario *g*, su influencia es innegable. Sin ir más lejos, la infraestructura cerebral influye directamente en cualquier proceso psicológico. Sin embargo, otro factor que podría considerarse general, ignorado por las teorías psicométricas, es la creatividad. La capacidad para generar ideas debería, por definición, estar íntimamente relacionada con la inteligencia, ya sea como una inteligencia más o como un catalizador de la producción intelectual.

Por último, el valor predictivo del CI se aplica exclusivamente al éxito académico, y se ha estudiado siempre en relación a este. De hecho, el sistema educativo tradicional y el CI evalúan y premian las mismas capacidades mentales, y se relacionan tan íntimamente que, por ejemplo, durante las vacaciones de verano se reduce transitoriamente el rendimiento observado en los test de inteligencia (Colom, 2002). Además, esta medida no es un predictor adecuado del rendimiento futuro en ámbitos ajenos al académico (Gardner, 2011). Por la rigidez inherente al sistema educativo, aquellas perso-

nas que no destacan en las capacidades estudiadas por el CI sufren de una inadecuación al sistema, y en consecuencia un peor desarrollo intelectual que no tiene en cuenta sus potenciales. La neurodiversidad es una realidad patente, que ha de ser tomada en cuenta especialmente en el terreno de la educación.

3. CONCLUSIONES

¿Deberíamos sacrificar empirismo a cambio de una visión más holística y pragmática de la inteligencia que fomente la diversidad? Es una cuestión que permanece abierta al debate, pero desde lo presentado anteriormente, no podemos evitar pensar que sí. No sólo deberíamos hacer el cambio, sino que éste es necesario, y lleva siendo expresado muchos años por la sociedad, no directamente, sino por los problemas que acarrea. El CI es una herramienta comparativa adecuada para medir inteligencia lógico-matemática y fluidez verbal, pero incompleta. No existe una alternativa que goce de la misma precisión, pero es necesario considerar otros métodos de valorar la capacidad intelectual y el posible desarrollo de las personas para no restringir el progreso de la humanidad a quienes pasan el filtro académico.

Debemos tener en cuenta que la inteligencia puede estudiarse desde muchos enfoques, y requiere una aproximación ecléctica, sin ignorar la utilización posible del saber generado. ¿Realmente conocemos lo suficiente como para permitirnos etiquetar a la humanidad y pensar que tenemos razón?

BIBLIOGRAFÍA

- Binet, A., and Simon, T. 1905. New methods for the diagnosis of the intellectual level of subnormals. *L'annee Psychologique*. 12:191-244.
- Cattell, R. B. 1941. Some theoretical issues in adult intelligence testing. *Psychological Bulletin*. 38(592): 10.
- Cattell, R. B. 1963. Theory of fluid and crystallized intelligence: A critical experiment. *Journal of educational psychology*. 54(1): 1.
- Colom, R. 2002. *En los límites de la inteligencia: ¿es el ingrediente del éxito en la vida?* Pirámide, Madrid.
- Galton, F. 1869. *Hereditary genius: An inquiry into its laws and consequences*. Macmillan, New York.
- Feuerstein, R. & Jensen, M. R. 1980. *Instrumental enrichment: Theoretical basis, goals, and instruments*. In *the Educational Forum*. Taylor and Francis Group, p. 401-423.

- Feuerstein, R., Klein, P. S., and Tannenbaum, A. J. 1991. *Mediated learning experience (MLE): Theoretical, psychosocial and learning implications*. Freud Publishing House Ltd., London.
- Gardner, H. 1995. *Inteligencias múltiples*. Paidós, Barcelona.
- Gardner, H. 2016. *Estructuras de la mente: la teoría de las inteligencias múltiples*. Fondo de Cultura Económica, México.
- Horn, J. L. 1965. *Fluid and crystallized intelligence: a factor analytic study of the structure among primary mental abilities*. Unpublished doctoral dissertation. University of Illinois. (University Microfilms 65-7113).
- Mérida, J. A. M. & Jorge, M. L. M. 2007. La Escala de la Inteligencia de Binet y Simon (1905) su recepción por la Psicología posterior. *Revista de Historia de la Psicología*. 28(2): 307-313.
- Román, M., and Díez, E. 2009. *La inteligencia escolar: aplicaciones al aula*. Conocimiento, Santiago de Chile.
- Spearman, C. 1904. "General Intelligence," objectively determined and measured. *The American Journal of Psychology*. 15(2): 201-292.
- Stern, W. 1911. *Die differentielle Psychologie*. Barth, Leipzig.
- Sternberg, R. J. 1985. *Beyond IQ: A triarchic theory of human intelligence*. CUP Archive, Cambridge, MA.
- Sternberg, R. J., and Davidson, J. 1989. A four-prong model for intellectual development. *Journal of Research and Development in Education*. 22(3): 22-28.
- Terman, L. M. 1916. *The measurement of intelligence: An explanation of and a complete guide for the use of the Stanford revision and extension of the Binet-Simon Intelligence Scale*. Houghton Mifflin, Boston.
- Thurstone, L. L. 1938. *Primary mental abilities*. University of Chicago Press, Chicago.
- Vygotsky, L.S. 1978. *Mind in society*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Intervención en úlceras por presión

Intervention in pressure ulcers

PAULA JUÁREZ GÓMEZ

Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid

Tutor: Laureano Lorente Ruigómez

paulajua@ucm.es

Resumen: Las úlceras por presión son una patología muy frecuente (prevalencia en centros de salud y sociosanitarios entre 0,4% y 13,4% en mayores de 65 años) con una mortalidad del 56% en seis meses. Resultan de una compleja interacción entre factores de riesgo y constituyen un problema social y sanitario que va en aumento debido a que no se lleva a cabo una solución concorde a la magnitud del problema. Se plantea el abordaje integral en base a un caso clínico.

El caso que se plantea es de un varón de 80 años que, tras sufrir una fractura de cadera derecha, desarrolla una úlcera por presión. La lesión se encuentra en el estadio I y está situada en la tuberosidad isquiática ipsilateral.

La valoración completa del paciente (función muscular y articular, riesgo de úlcera y otras valoraciones de carácter social y familiar) permite establecer los objetivos y realizar un plan de intervención específico. Este debe centrarse en mejorar la calidad de vida del paciente consiguiendo unos objetivos básicos tales como la mejora de la movilidad, autonomía, red de apoyo y motivación mediante acciones concretas. El abordaje global de las úlceras por presión debería realizarse desde los Centros de Salud mediante equipos de trabajo multidisciplinares protagonizados por un terapeuta ocupacional.

Palabras clave: úlceras presión, intervención, integral, ocupacional

Abstract: Pressure ulcers are a very common pathology (prevalence in health and socio-sanitary centers ranges between 0,4% and 13,4% for patients over 65 years of age) with a mortality of 56% at six months. They are result of a complex interaction between risk factors and they constitute a social and health problem that is increasing since solutions

that can tackle the problem are not being implemented. I propose a comprehensive approach based on a clinical case.

The case I present is that of an 80-year-old man who, after suffering a right hip fracture, developed a pressure ulcer. The lesion is a stage I ulcer and is located in the ipsilateral ischial tuberosity.

The full assessment of the patient (muscular and articular function, risk of ulcer development and other assessments of social and family character) allows to set goals and to make a plan for specific intervention. This intervention must focus on improving the patient's quality of life. This can be accomplished through concrete actions that lead to the achievement of a few basic objectives, such as improving mobility, autonomy, patient's support network and motivation. The global approach of pressure ulcers should be carried at Health Centers by multidisciplinary teams lead by an occupational therapist.

Keywords: pressure ulcers, intervention, comprehensive, occupational

1. INTRODUCCIÓN

Las UPP (úlceras por presión) son unas lesiones localizadas en la piel y/o tejido subyacente, producidas generalmente sobre una prominencia ósea, resultado de la presencia de compresión, cizallamiento y/o fricción durante un tiempo prolongado. Se clasifican en los siguientes estadios: estadio I, piel intacta con eritema que no palidece tras la presión; estadio II, pérdida parcial del grosor de la piel que afecta a epidermis y/o dermis; estadio III, pérdida total de grosor de la piel sin atravesar la fascia subyacente, y estadio IV, necrosis del tejido asociado a daño muscular, óseo o de estructuras de sostén (Arango *et al.*, 2007).

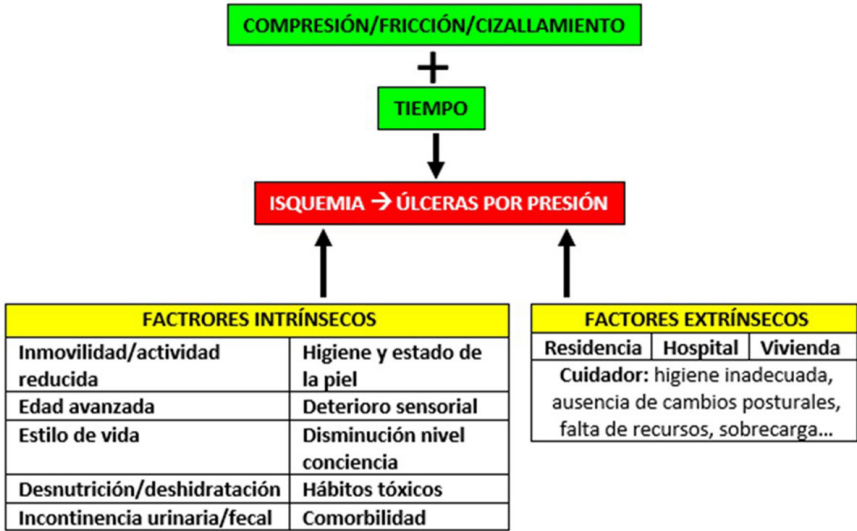
Según la postura que adopta el paciente, las UPP pueden aparecer en distintas zonas: decúbito supino (talón, sacro, codos, omóplato y occipucio), lateral (oreja, hombro, costillas, trocánter, cóndilos y maléolos), prono (cara, mamas, genitales masculinos, rodillas y dedos) y en sedestación (omóplato, cóccix, trocánter y tuberosidad isquiática) (Ripol, 2011).

Estas úlceras pueden ser por: compresión (provoca aplastamiento tisular e isquemia), fricción (produce rozamiento superficial en epidermis y dermis) o cizallamiento (cuando la cabecera de la cama se eleva más de 30°) (Carrasco *et al.*, 2009). Existen diversas circunstancias que aumentan el riesgo de que aparezcan estas úlceras (Tabla 1).

2. CASO CLÍNICO

Se trata de un varón de 80 años, que presenta una úlcera por presión de estadio I en la tuberosidad isquiática derecha debido a que pasa largo tiempo en silla de ruedas. Una caída le ocasionó

Tabla 1. Mecanismos implicados en la formación de las úlceras por presión.



una fractura de cadera derecha por la que fue operado hace un mes. Presenta movilidad reducida en miembros inferiores y escasa fuerza en miembros superiores, lo que genera limitaciones en algunas de las actividades básicas de la vida diaria (ABVD). Presenta además incontinencia urinaria, buen estado sensorial, motivación nula y no tiene relaciones interpersonales. Vive con su esposa y tiene un hijo.

3. VALORACIÓN

a. Valoración funcional del paciente.

Se realiza un balance muscular y articular y se valora la fuerza de miembros superiores e inferiores. Se valoran la motivación, sus intereses y el funcionamiento en las ABVD.

b. Valoración del riesgo de avance de la úlcera y desarrollo de nuevas úlceras.

Mediante la Escala de Braden se obtuvo: riesgo moderado. Sin limitaciones en percepción sensorial, requiere cambios frecuentes de ropa de cama y de absorbentes de silla, nutrición inadecuada, potencialmente expuesto a roce y fricción (Romero y Aguilar, 2017).

c. Otras valoraciones.

Vivienda y entorno físico cercano: se valora la existencia de barreras tales como ausencia de ascensor, rampas, barandillas, buena iluminación...

Situación sociofamiliar: vive con su esposa. Su hijo les visita habitualmente, tienen buena relación. No tiene contacto con amistades. Solo sale de casa si tiene que ir al médico.

El estado de la úlcera y el conocimiento de los familiares sobre esta.

Procesos implicados en la humedad de la piel: revisar colectores, sondas vesicales, absorbentes, temperatura corporal, ropa (sudoración), drenajes, exudados de heridas y fiebre.

Nutrición: para tratar la pérdida de fuerza, adelgazamiento y deshidratación de la piel.

4. INTERVENCIÓN DE TERAPIA OCUPACIONAL

Los objetivos e intervenciones básicos a lograr en este paciente con úlcera por presión estadio I (Tabla 2) se exponen a continuación:

Para aumentar la movilidad:

Realizar ejercicios isotónicos asistidos, activos y/o activos con resistencia y ejercicios isométricos, para aumentar el tono muscular, fuerza en miembros superiores y rango articular en miembros inferiores. Enseñar ejercicios para que se realicen en el domicilio durante 30 minutos/día. Según vaya recuperando movilidad, recomendar dar paseos programados (con hijo, esposa o amigos), incrementando progresivamente frecuencia y duración.

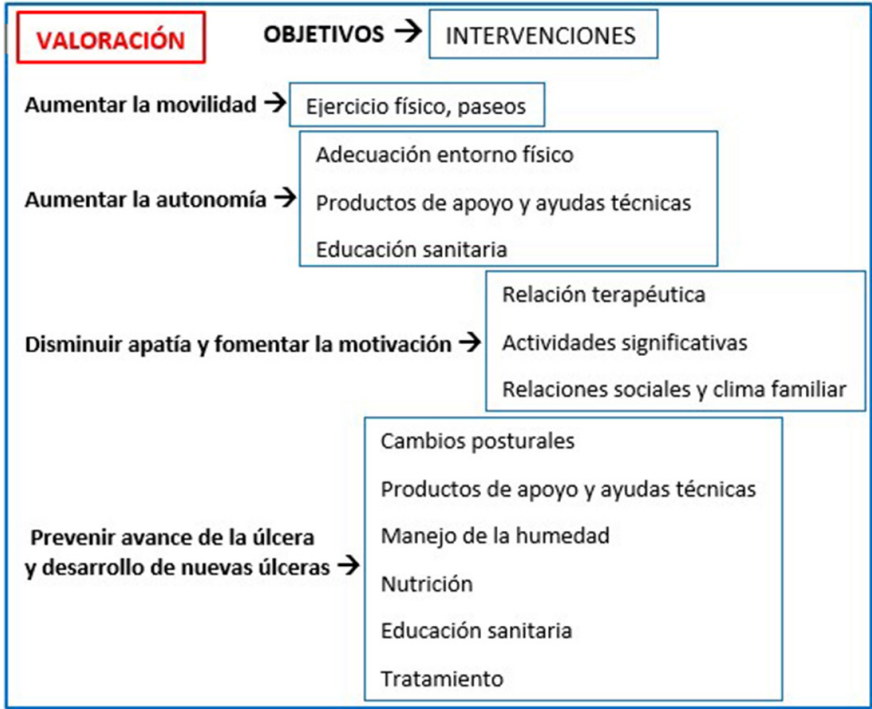
Para aumentar la autonomía:

a. Adecuación de la vivienda y entorno físico: suprimir las barreras encontradas.

b. Productos de apoyo y ayudas técnicas, por ejemplo: pinza alargadora para facilitar los alcances, silla de ducha adaptada, barras de apoyo en la cama y/o inodoro para facilitar las transferencias y volteos, elevador de inodoro, esponja con mango largo.

c. Educación sanitaria: dar al usuario y a sus familiares la información necesaria sobre transferencias y el uso de productos de apoyo y de las ayudas técnicas.

Tabla 2. Valoración e intervenciones específicas en las úlceras por presión.



Para disminuir la apatía y fomentar la motivación:

Se promueven los siguientes aspectos:

- a. Una relación terapéutica basada en la confianza y comunicación.
- b. La realización de actividades significativas dentro del hogar y en la comunidad.
- c. Las relaciones sociales y un clima familiar favorable y satisfactorio.

Para prevenir el avance de la úlcera por presión y el desarrollo de nuevas úlceras:

- a. Cambios posturales cada 2-3 horas cuando se encuentre en decúbito supino o lateral y cada 15-20 minutos si está en prono. En la silla, enseñar al usuario a aprovechar la fuerza conservada en miembros superiores para realizar una pulsión de 1 minuto cada

15 minutos. Y cada hora, el cuidador se encarga de cambiar su postura (Ripoll, 2011).

b. Productos de apoyo y ayudas técnicas, por ejemplo: colchones, colchonetas o cojines alternantes (con o sin flujo) de aire, inclinar el asiento de la silla de ruedas 5-10° para evitar el efecto “hamaca”, uso de cojines de aire, gel, silicona o espuma, cojines lumbares, protectores que no impidan observar el estado de la piel, que sean de fácil cambio y colocación y ropa que no tenga cremalleras o costuras en zonas de apoyo.

c. Manejo de la humedad de la piel: aportar información a su esposa e hijo para que en el propio domicilio tengan controlados todos los procesos que generan humedad.

d. Se aconseja el seguimiento de una dieta rica en calorías, proteínas y vitaminas antioxidantes y que esté compuesta por cinco comidas diarias.

e. Educación sanitaria: dar al usuario y a sus familiares la información necesaria sobre cambios posturales, tratamiento de la úlcera, factores de riesgo, zonas a vigilar, adecuación de prendas, limpieza y colocación de las sábanas, posicionamiento de catéteres y cuándo contactar con un profesional.

f. Tratamiento de la úlcera: lavado y secado sin frotar, no utilizar antisépticos ni dar masajes, protección diaria, ácidos grasos hiperoxigenados y vigilancia frecuente. En las zonas de riesgo: jabones neutros, agua tibia, secar sin frotar, masaje con cremas hidratantes, sábanas sin arrugas y revisar periódicamente la piel.

5. DISCUSIÓN

Las úlceras por presión son una patología muy frecuente, resultado de una compleja interacción entre numerosos factores de riesgo y que conllevan una mortalidad del 56% a los seis meses de inicio (Díez *et al.*, 2016). Constituyen un problema social y sanitario que va en aumento debido a que no se lleva a cabo una solución concorde a la magnitud del problema.

El abordaje de su prevención y tratamiento debe abarcar diferentes disciplinas, entre las que médicos, enfermeras, terapeutas ocupacionales, cuidadores personales y asistentes sociales, se consideran indispensables para conseguir un abordaje integral.

De la misma manera que otros problemas sanitarios se abordan mediante equipos de trabajo, las úlceras por presión deberían abordarse de manera global desde los Centros de Salud, puesto que la mayor incidencia de estas se da en dicho ámbito. De este modo, a nivel familiar y en residencias se da la mayor prevalencia, entre 0,44% y 13,41% en mayores de 65 años (Pancorbo *et al.* 2014). Estos equipos de trabajo deberían ser protagonizados por terapeutas ocupacionales puesto que la mayor carga de trabajo respecto a la valoración e intervención son áreas específicas de su responsabilidad.

Es preciso establecer un plan de intervención que englobe, por un lado, la prevención, dirigida a evitar el desarrollo de úlceras por presión y el avance de las que ya han aparecido, y, por otro lado, la mejora de la calidad de vida de los pacientes, que se consigue logrando una mejora de la movilidad, de la autonomía, de la red de apoyo y de la motivación.

BIBLIOGRAFÍA

- Arango, C., O. Fernández, and B. Torres. 2007. Úlceras por presión. En: *Tratado de Geriátria para residentes*. Sociedad Española de Geriátria y Gerontología. p. 217-226.
- Carrasco, M., W.R. Ramallo, and G. Hernández. 2009. *Úlceras por presión*. <http://www.ilustrados.com/documentos/ulcerasporpresion.doc> (acceso 25 enero 2018).
- Díez, J., C. Fernández, M.P. Lambán, M.C. Landa, S. Isasi de Isasmendi, P. Moreno, *et al.* 2016. Pressure ulcers in patients hospitalized in internal medicine: Associated factors and mortality. *Rev Clin Esp.* 216:461-467.
- Pancorbo, P.L., F.P. García, J. Torra, J. Verdú, and J.J. Soldevilla. 2014. Epidemiología de las úlceras por presión en España en 2013: 4º Estudio Nacional de Prevalencia. *Gerokomos.* 25:162-170.
- Ripol, E. 2011. Buenas prácticas. *La tarea de cuidar: higiene postural, movilización y transferencias. Manual para el cuidador*. Departamento de Servicios Sociales y Familia del Gobierno de Aragón, Zaragoza. 89 pp.
- Romero, G., and E.M. Aguilar. 2017. Factores de riesgo para úlceras por presión en pacientes pediátricos hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos. *Rev Enferm Inst Mex Seguro Soc.* 25:111-8.

Farmacovigilancia Veterinaria 2.0, ¿pueden ser las Redes Sociales el impulso definitivo para su desarrollo?

Veterinary Pharmacovigilance 2.0, can Social Networks be the final impulse for its development?

BEATRIZ LAGO CRUZ, PATRICIA GÓMEZ LORENZO

Tutores: José María Ros Rodríguez¹ y Nerea Carla Martínez Casado²

1. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense

2. Clínica Veterinaria “Carlanca”

beatrila@ucm.es, pagome07@ucm.es

Resumen: La Farmacovigilancia estudia los problemas de uso que provocan en los animales, hombre y Medio Ambiente los Medicamentos Veterinarios postcomercializados. El empleo de las Redes Sociales (RRSS) promueve la adquisición del hábito de recogida y evaluación de las notificaciones efectuadas en “Tarjeta verde” por su falta de seguridad y/o eficacia. Las actividades docentes programadas en este trabajo tienen como objetivo, la creación de un espacio permanente de relación y enseñanza activa de Farmacovigilancia veterinaria (FVG_{Vet}), basado en el aprendizaje colaborativo y transversal de esta materia para ser utilizado por estudiantes y profesionales sanitarios. Para ello, se han diseñado y elaborado materiales y herramientas docentes que favorecen el interés y difusión de la FVG_{Vet} en RRSS, desarrollándose “quick lessons”, en forma de folletos o carteles cuyo contenido es muy directo, visual y de rápida comprensión de la información. También, se han editado o creado, Videos, Buzones, Blogs, Formularios, ... con el mismo fin. Tanto a nivel docente como profesional, la instauración de las medidas propuestas reforzarían el conocimiento de la Farmacovigilancia Veterinaria y su función indispensable en el mantenimiento de la Salud Pública, y promoverían la adquisición del hábito de notificar los problemas provocados por los medicamentos de uso veterinario mediante el envío de la “Tarjeta verde” a la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). Pensamos, que en el proceso de enseñanza-aprendizaje se debe favorecer el uso de las RRSS, ya que actualmente son herramientas cotidianas que favorecen tanto el aprendizaje y como la participación activa de modo más inmediato, sencillo y actualizado.

Palabras clave: Farmacovigilancia veterinaria. Redes Sociales. Aprendizaje colaborativo y transversal. Creación de materiales y herramientas docentes

Abstract: Pharmacovigilance studies the problems of use caused by animals, humans and the environment after post-marketing veterinary medicines. The use of Social Networks contributes to the acquisition of the habit of collecting and evaluating the notifications made in “Tarjeta verde” for their lack of security and/or efficiency. The objective of the teaching activities programmed in this work is the creation of a permanent relationship and active teaching area for veterinary pharmacovigilance (FVGvet), based on collaborative and transversal learning of this subject to be used by students and health professionals. Materials and teaching tools that favor the interest and dissemination of the FVGvet in RRSS have been designed and making, “quick lessons”, brochures or posters of content is very direct, visual and quick understanding of the information. Also, they have been edited or created, Videos, Mailboxes, Blogs, Forms, ... with the same purpose. Both at a teaching and professional level, the implementation of the proposed measures would reinforce the knowledge of the Veterinary Pharmacovigilance and its indispensable function in the maintenance of Public Health, and would promote the notification of problems caused by veterinary medicines through the sending of the “Tarjeta verde” to the Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). We think that in the teaching-learning process the use of the RRSS should be encouraged, since they are currently everyday tools that favor both learning and active participation in a more immediate, simple and updated.

Keywords: Veterinary pharmacovigilance. Social networks. Collaborative and transversal learning. Making of teaching materials and tools

1. INTRODUCCIÓN

La Farmacovigilancia evalúa y da conocer los problemas de seguridad y/o eficacia de los medicamentos veterinarios postcomercializados que se producen en los animales, hombre y Medio ambiente. Los profesionales sanitarios (Veterinarios, Farmacéuticos, Médicos, Laboratorios e incluso los propietarios de animales) tienen la obligación legal de notificar oficialmente en “Tarjeta verde” a la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) de estas contrariedades cuando aparecen. En trabajos previos (de Ugarte *et al*, 2011) se comprueba que existe un bajo número de notificaciones recibidas anualmente en esta Agencia reguladora en relación al uso total de medicamentos y las de otros países del entorno (AEMPS, 2016).

En este trabajo se ha propuesto trasladar las acciones educativas formativas al ámbito de las Redes Sociales (RRSS), ya que permiten la transmisión de un mensaje más directo, cotidiano y amigable al público potencial y ofrecen que tanto el aprendizaje y

como la participación activa, se obtenga de modo más inmediato, sencillo y actualizado (Aguilar *et al*, 2012).

El objetivo principal es potenciar en conjunto el aprendizaje y aplicación de los conocimientos de la Farmacovigilancia Veterinaria (FVG_{Vet}), que favorezca en la práctica la realización de notificaciones de reacciones adversas, falta de eficacia, errores de fabricación, ..., a través del uso de las nuevas tecnologías de información y comunicación, entre las que se encuentran las principales Redes Sociales (Facebook, Twitter, Instagram, YouTube, LinkedIn, WhatsApp, ...).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Los necesarios para llevar a cabo una serie de actividades que han buscado desarrollar los profesores en los estudiantes:

- Estimular el aprendizaje autónomo de los conocimientos teóricos y prácticos sobre Farmacovigilancia Veterinaria impartidos en las asignaturas del Área de Farmacología del Grado de Veterinaria (UCM).

- Aprender a sintetizar y conceptualizar los aprendizajes adquiridos con el diseño y creación de materiales y herramientas que sirva para su divulgación.

- Transmitir, de forma colaborativa y transversal dichos conocimientos a otros colectivos profesionales mediante la creación de entornos de enseñanza/aprendizaje virtuales y medios de comunicación vehiculados por Redes sociales.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente y de forma autónoma, los estudiantes conseguimos los conocimientos formativos necesarios recibidos en la asignatura de “Farmacología Clínica y Farmacoterapéutica”, en donde se abordan los aspectos teóricos básicos y prácticos obligatorios de cumplimentación de notificación de FVG_{Vet}. Posteriormente, realizamos la puesta en común de forma colaborativa y cooperativa de diferentes propuestas individuales adquiridas significativamente y que van conducir a informar de existencia de la FVG_{Vet} entre estudiantes, profesionales sanitarios, ..., usando para su difusión las Redes Sociales.

En este sentido, las actividades que se han propuesto van dirigidas a estimular el aprendizaje autónomo de los conocimientos

sobre Farmacovigilancia veterinaria utilizando medios virtuales, ya que en este momento son herramientas cotidianas y que están totalmente integradas en el día a día de las personas.

Para llevarlo a cabo, se han diseñado y creado una serie de materiales y herramientas docentes. Uno de los materiales más novedosos y atrayentes en donde los alumnos hemos plasmado los aprendizajes adquiridos son las “Quick lessons” (Angelova, 2005), caracterizadas por ser lecciones breves centradas en temáticas muy específicas y con las ventajas de poderse utilizar para desarrollar competencias particulares, ampliar conocimientos, suscitar interés hacia la difusión de un tema (Farmacovigilancia veterinaria, en nuestro caso) o introducir técnicas o estrategias, todo ello, a través de las Redes Sociales. En su elaboración consensuada, siempre deberá tenerse en cuenta que el contenido debe ser directo y muy visual, huyendo de esquemas densos con contenidos muy pormenorizados que dificultarían su ideal y rápida comprensión. Específicamente, las que hemos realizado son folletos o pósters informativos para la asimilación rápida del mensaje que se quiere enviar a colectivos profesionales, que cuentan con las opciones divulgativas de suscitar visualmente el interés hacia nuestro tema, al quedar expuesto físicamente (Clínicas veterinarias, Establecimientos ganaderos, Colegios profesionales, ...) o incluido en los respectivos perfiles de los citados centros en RRSS (Figura 1).

En este mismo sentido, se han editado o creado, Videos, Buzones, Blogs, Formularios, ... (Figura 2).

Las actividades y materiales que se mencionan en este trabajo son parte de los desarrollados por diferentes grupos participantes en el Proyecto INNOVA-Docencia UCM N° 108/2017-2018.

En la actualidad y en breve, tendrá lugar el comienzo de difusión pública de los materiales y herramientas FVGvet creadas por todos los grupos de trabajo. Los diferentes colectivos



Recuerda **siempre** notificar efectos secundarios, reacciones adversas, falta de eficacia o problemas ambientales.
¡Está en tus manos!

Figura 1. *Quick lesson* de Farmacovigilancia Veterinaria (FVGvet)



Figura 2. Fotogramas del video realizado sobre Farmacovigilancia Veterinaria (FVGvet)

profesionales a los que van destinados, se les transmitiría los conocimientos del tema de una forma directa y eficaz a través de entornos virtuales de comunicación como son las principales RRSS (Facebook, Twitter, Instagram, YouTube, LinkedIn, WhatsApp, ...).

Para favorecer la difusión de la información contenida en ellos, se tendría que favorecer compartirla (en el caso de Facebook), Retweetear los seguidores (Twitter) o realizar comentarios en Instagram.

Con objeto de medir el grado de aceptación en todos los colectivos a los que van destinados, se tiene pensado realizar encuestas utilizando aquellas Redes Sociales que cuentan con la posibilidad de poder diseñarlas, aunque están limitadas a efectuar una pregunta corta con cuatro opciones de respuesta. Actualmente, existen las denominadas “Tuitencuestas#.....” incluidas para su uso en Twitter.

Y respecto a reforzar el conocimiento de la Farmacovigilancia Veterinaria y su importancia en la Salud Pública, sería valorado por la propia AEMPS como agencia reguladora, ya que conocerá directamente, si aumenta o no el hábito de notificación por el número de “Tarjetas verde” recibidas para su análisis y evaluación.

Partiendo de la posibilidad, que al existir mayor difusión del tema se produjeran más comunicaciones de problemas con el uso de los Medicamentos veterinarios.

4. CONCLUSIONES

Las Agencias reguladoras oficiales (AEMPS) y las Universidades continúan fomentando el aprendizaje y aplicación de la FVG-Vet por la utilización de la Tarjeta verde.

El diseño, creación y visualización de herramientas docentes específicas (videos, Quick lessons, buzones, ...) en RRSS, sirven para divulgar los conocimientos y desarrollar el aprendizaje de la FVG-Vet entre los estudiantes y profesionales sanitarios.

La comunicación y transferencia de los contenidos en reuniones de estudiantes de iniciativas como ésta, da lugar al aprendizaje transversal por aplicación y uso de todo tipo de conocimientos, tanto a nivel veterinario como en otros estudios de Grado y profesiones en Ciencias de la Salud.

AGRADECIMIENTOS

A la UCM por la concesión del Proyecto INNOVA-Docencia 108/2017-2018, así como a sus miembros participantes.

BIBLIOGRAFÍA

- AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios). 2016. <http://www.aemps.es> (acceso 12 marzo 2017).
- Aguilar, M. G., Campos, S. R. & Batlle, P. F. 2012. El uso académico de las redes sociales en universitarios. *Comunicar*. 19 (38): 131-138.
- Angelova, M. 2005. Using Bulgarian Mini-Lesson in an SLA Course to Improve the KAL of American ESL Teachers. *Applied Linguistics and Language Teacher Education Educational Linguistics*. 4: 27-41.
- Ugarte Rojo, B. de, Epifanio Gualda, C., Fernández Villar, A., García Ordoñez, L., Wuhrman Otero, B. 2011. *Farmacovigilancia veterinaria en dos Actos. Acto-I: la Tarjeta verde encuestada*. VI Jornadas Complutenses, V Congreso Nacional de Investigación para Alumnos de Pregrado en Ciencias de la Salud y X Congreso de Ciencias Veterinarias y Biomédicas.

Estudio del ojo seco antes y después de la cirugía refractiva láser relex smile

Dry eye disease before and after small incision lenticule extraction

ANA LÓPEZ VÁZQUEZ

Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid

analopezvazquez94@gmail.com

Resumen: Objetivo: Analizar la incidencia de ojo seco antes y después de la cirugía láser ReLEX SMILE en base a los resultados de las pruebas objetivas y la valoración subjetiva de la muestra en estudio.

Método: Este estudio analítico, prospectivo y observacional analiza pacientes tratados con la técnica Láser SMILE para corregir su miopía y/o astigmatismo.

En ellos se realizaban pruebas objetivas y una valoración subjetiva del ojo seco precirugía y dos meses postcirugía- Los datos obtenidos fueron analizados para determinar si existe un aumento de la patología del ojo seco después de la intervención quirúrgica.

Resultados: La agudeza visual sin corrección tras la cirugía refractiva mediante la técnica ReLEX SMILE no presentó diferencias estadísticamente significativas con la AV prequirúrgica con corrección. Los valores de las pruebas objetivas y subjetivas para el diagnóstico de ojo seco postquirúrgicas no presentaron diferencias estadísticamente significativas con los valores prequirúrgicos

Conclusiones : En nuestro estudio los resultados refractivos con la técnica ReLEX SMILE fueron un éxito. Ninguno de los pacientes de este estudio presentaron signos objetivos ni subjetivos de ojo seco después de esta técnica refractiva

Palabras clave: ojo seco, ametropía, SMILE, cirugía

Abstract: Purpose: to analyze the incidence of dry eye before and after small incision lenticule extraction (SMILE) surgery, based on the results obtained in the objective and subjective tests performed on the patients.

Methods: This is an analytical, prospective and observational study performed on patients who were treated with the SMILE technique for myopia and/or astigmatism.

They underwent a series of objective and subjective tests to evaluate the existence of dry eye pre-surgery and two months post-surgery.

Results: the visual acuity after surgery using the SMILE technique did not show statistical significant difference to the visual acuity before the surgery. The results obtained with the objective and subjective tests after undergoing surgery did not show any difference with the presurgical results.

Conclusion: the visual acuity results using the SMILE technique were successful. None of the patients included in the study showed objective or subjective symptoms of dry eye disease after the surgery.

Kew words: dry eye, ametropía, SMILE, surgery

1. INTRODUCCIÓN

El ojo seco, según un comité de expertos agrupados en la DEWS (International Dry Eye Workshop) “es una enfermedad multifactorial de la superficie ocular, que se caracteriza por una pérdida de la homeostasis de la película lagrimal y que va acompañada de síntomas oculares, en los que la inestabilidad e hiperosmolaridad de la superficie ocular, la inflamación y daño de la superficie ocular y las anomalías neurosensoriales desempeñan papeles etiológicos”

Se trata de una patología muy frecuente de la superficie ocular y juega un papel importante en la sensación de confort ocular así como en la capacidad visual de los pacientes, siendo además importante el impacto que tiene esta patología en su calidad de vida.

Es importante resaltar que se ha observado una mayor incidencia de esta patología en los pacientes que han sido sometidos a cirugía refractiva, especialmente en el periodo postoperatorio inmediato.

Además del empeoramiento de la calidad de vida que puede producir en el paciente, hay que considerar que se ha asociado el ojo seco a un retraso en la recuperación quirúrgica. Es por ello, que resulta importante tener conocimiento de este síndrome, los factores de riesgo asociados, así como los tratamientos que se encuentran disponibles para los pacientes, para así poder realizar un mejor abordaje del problema.

Los procedimientos quirúrgicos más frecuentemente utilizados para la corrección de la ametropía y que van a ser comparados en este trabajo son la cirugía con la técnica láser Relex SMILE y la cirugía por medio de la técnica LASIK.

1.1. Cirugía con la técnica láser SMILE

El láser VisuMax es el único láser en la actualidad que puede realizar la técnica ReLEx SMILE, utilizando sólo tecnología femtosegundo de alta precisión en todo el proceso quirúrgico.

El láser femtosegundo VisuMax talla una pequeña lente dentro de la córnea, y excepto los 2 mm de apertura en superficie para la extracción del lentículo, la superficie corneal permanece intacta durante la operación.

El volumen y forma de este lentículo, viene determinado por la potencia del defecto visual a corregir y el diámetro del mismo, elegido en función de los diámetros pupilares mesópicos (entre 40-150 micras).

1.2. Cirugía con la técnica LASIK (láser in situ keratomileusis)

Se trata de la técnica quirúrgica más extendida para la corrección de la ametropía.

En primer lugar se hace un corte en la córnea que permite la elevación de una fina capa de tejido corneal, lo que se conoce como “flap”, que es posteriormente tallada por medio del uso del láser en función del defecto de refracción a corregir.

Una vez realizado el tallado se puede volver a colocar el flap en su lugar, que se adhiere de nuevo al epitelio sin necesidad de puntos.

Según lo anteriormente expuesto, el SMILE es un procedimiento menos traumático a nivel corneal que el LASIK, hecho que debemos tener en cuenta en este estudio, ya que una mayor agresión corneal podría ser causante de una mayor incidencia de ojo seco.

2. OBJETIVO

Analizar la incidencia de ojo seco antes y después de la cirugía de SMILE en base a los resultados de las pruebas objetivas y la valoración subjetiva de la muestra en estudio, que son pacientes sometidos a cirugía con el Láser ReLEX SMILE.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se ha llevado a cabo con pacientes que han sido sometidos a cirugía refractiva de miopía y/o astigmatismo por medio de la técnica Láser ReLEX SMILE en la Clínica oftalmológica Laservision. Cabe destacar que todas las cirugías han sido llevadas a cabo por el mismo cirujano oftalmólogo, el Dr López Castro.

Se trata de un estudio descriptivo prospectivo observacional, en el que se han analizado los datos de pacientes operados en un periodo de tiempo desde octubre de 2017 hasta enero del 2018. Hasta la fecha un total de 33 pacientes.

Para la valoración del ojo seco se han utilizado un conjunto de cuatro pruebas, tres de ellas de carácter objetivo y una escala subjetiva a rellenar por el paciente.

Las pruebas objetivas han sido elegidas para valorar las distintas características que determinan una lágrima normal. Se trata de:

Test de Schirmer II: busca medir la producción de lágrima, por tanto evalúa el flujo lagrimal. Se trata de una de las técnicas oftalmológicas tradicionales para la medida del ojo seco. Este test se realiza con anestésico tópico, de manera que simplemente evalúa la secreción basal, a diferencia del test de Schirmer I, que evalúa tanto la secreción basal como la refleja. La lectura se realiza a los 5 minutos, y el punto de corte es de 15 mm.

Tiempo de ruptura lagrimal o BUT (Break-up time): se encarga de evaluar la estabilidad lagrimal. Consiste en la instilación de fluoresceína sobre la superficie ocular, que permite la visualización de la película lagrimal y medir el tiempo que ésta tarda en romperse después del último parpadeo.

La visualización se hace por medio de la lámpara de hendidura y el filtro azul.

Se consideran valores normales del BUT aquellos por encima de los 10 segundos.

Tinción con fluoresceína y clasificación según la escala de Oxford: La tinción con fluoresceína permite la visualización del daño celular corneal en función del depósito de la tinción. Los hallazgos en el ojo del paciente permiten una valoración de menor a mayor gravedad desde el grado 0 (ausencia de depósito de fluoresceína) hasta el grado V (Depósito muy marcado de fluoresceína, implica gravedad)

Escala analógica subjetiva del ojo seco. Se trata de una valoración del 1-10 que es rellenada por el paciente en función de la sensación de molestias y sequedad que presenta. Los valores van desde 1, que implica que no hay molestias; hasta 10, que se corresponde con molestias insoportables, y la necesidad de usar lágrimas artificiales de manera constante.

Los valores a analizar se obtenían en una consulta previa a la cirugía y luego en la revisión oftalmológica que se realiza en estas cirugías al cabo de dos meses.

Se considera que pasado este tiempo, se ha producido una recuperación casi total de la morfología y la funcionalidad corneal.

Las pruebas fueron realizadas en su totalidad por los ópticos del centro donde se realiza el estudio, que es la Clínica oftalmológica Laservision según el protocolo que ha sido redactado específicamente para este estudio.

Además, se ha proporcionado un Consentimiento informado a los pacientes previo a la realización de pruebas o recogida de datos personales.

Los pacientes que entran en el estudio son aquellos que cumplían los criterios de inclusión: aquellos que iban a ser sometidos a cirugía de SMILE para corregir su miopía y/o astigmatismo de ambos sexos y con una edad comprendida entre los 22 y 50 años.

Los criterios de exclusión incluyen un diagnóstico de ojo seco moderado o grave previo a la cirugía, cirugías oculares o palpebrales previas, enfermedades oculares o palpebrales previas a la cirugía, menores de 22 o mayores de 50 años así como consumidores de medicación antidepresiva o ansiolítica.

Para el análisis de los datos estadísticos, a pesar de que la cirugía ha sido realizada en ambos ojos se ha elegido solo uno de ellos para el estudio de los datos. Los valores entre los ojos del mismo paciente eran muy similares por lo que se consideró que la elección al azar de uno de ellos no produciría una alteración de los resultados.

Para el análisis estadístico se realizó una prueba de Wilcoxon que según se muestra en la gráfica, y en función de los pacientes estudiados hasta la fecha (33) no se puede rechazar la hipótesis nula (igualdad entre antes y después de la cirugía).

Tabla 1. Resultados obtenidos en el Test de Wilcoxon utilizando el programa SPSS.

Estadísticos de prueba^a

	Agudeza visual sin corrección postquirúrgica - Agudeza visual con corrección prequirúrgica	Escala ojo seco postquirúrgica - Escala ojo seco prequirúrgica	Test Schirmer II postquirúrgica - Test Schirmer II prequirúrgica	BUT postquirúrgico - BUT prequirúrgico	Escala subjetiva postquirúrgica - Escala subjetiva prequirúrgica
Z	-,466 ^b	-1,006 ^c	-,253 ^c	-,184 ^c	-,029 ^b
Sig. asintótica (bilateral)	,641	,314	,800	,854	,977

a. Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo

b. Se basa en rangos negativos.

c. Se basa en rangos positivos.

TABLA 1: Resultados obtenidos en el Test de Wilcoxon utilizando el programa SPSS.

4. RESULTADOS

La agudeza visual sin corrección tras la cirugía refractiva mediante la técnica ReLEx SMILE no presentó diferencias estadísticamente significativas con la AV prequirúrgica con corrección. Los valores de las pruebas objetivas y subjetivas para el diagnóstico de ojo seco postquirúrgicas no presentaron diferencias estadísticamente significativas con los valores prequirúrgicos

5. DISCUSIÓN

El ojo seco es una patología cuya prevalencia aumenta con la edad, especialmente a partir de los 40 años. Dentro de este estudio, no resulta a priori una población con alta prevalencia del ojo seco, ya que los criterios de inclusión limitaban la edad de los pacientes entre 22 y 50 años.

El ojo seco cuenta con un gran número de factores de riesgo entre los que se encuentran: el sexo femenino, las enfermedades del tejido conectivo, el síndrome de Sjögren, el déficit de andrógenos o el uso de medicación como los antidepresivos o los ansiolíticos. Es por ello que dentro de los criterios de exclusión se observa el consumo de dichos fármacos, para intentar reducir este sesgo de ojo seco iatrogénico en la medida de lo posible.

En este estudio es de gran relevancia la existencia del ojo seco iatrogénico.

Por un lado, el uso de lentes de contacto puede inducir la en-

fermedad de ojo seco o estar asociado a ella ya que produce la secreción de una capa lipídica más fina e irregular, una inestabilidad de la película lagrimal así como una menor tasa basal de renovación de lágrimas y una reducción del volumen del menisco lagrimal.

Además, en muchos casos son precisamente los pacientes que no toleran las lentes de contacto aquellos que deciden operarse, por lo que el estudio de la calidad y el volumen de la lágrima previo a la cirugía puede ayudar a valorar cuánto del ojo seco postquirúrgico se debe a la intervención oftalmológica.

6. CONCLUSIONES

En nuestro estudio los resultados refractivos con la técnica ReLEx SMILE fueron un éxito. Ninguno de los pacientes de este estudio presentaron signos objetivos ni subjetivos de ojo seco después de esta técnica refractiva.

BIBLIOGRAFÍA

- Agca, A. Demirok, Y. Yildirim, A. Demircan, D. Yasa, C- Yesilkaya, I. Perente, M. 2016. Taskapili. Refractive lenticule extraction (ReLEx) through a small incision (SMILE) for correction of myopia and myopic astigmatism: current perspectives. *Clinical Ophthalmology*, 10: 1905–1912.
- Bingjie Wang, Rajeev K. Naidu, Renyuan Chu, Jinhui Dai, Xiaomei Qu, and Hao Zhou. 2015. Dry Eye Disease following Refractive Surgery: A 12-Month Follow-Up of SMILE versus FS-LASIK in High Myopia. *JOPH*, 2015, Article ID 132417, 8 pages
- Craig JP, et al., 2017. *TFOS DEWS II Report Executive Summary, The Ocular Surface*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtos.2017.08.003>
- EJ Pinto Fraga, JI Garrote Rodríguez, A. Abengózar Vela, M. Calonge Cano, MJ González García. 2011. Técnicas diagnósticas para el síndrome de ojo seco. *Gaceta Optometría y óptica oftálmica*, 465: 4-7
- Ganesh S, Brar S, Arra RR. 2018. Refractive lenticule extraction small incision lenticule extraction: A new refractive surgery paradigm. *Indian J Ophthalmol*. 66:10-19.
- Shen Z, Zhu Y, Song X, Yan J, Yao K. 2016. Dry Eye after Small Incision Lenticule Extraction (SMILE) versus Femtosecond Laser-Assisted in Situ Keratomileusis (FS-LASIK) for myopia: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 11(12): e0168081.

Linfoma de Hodgkin: diagnóstico y tratamiento

Hodgkin Lymphoma: diagnosis and treatment

ELISA MARTÍN DEL POZO

CLARA COSTERO FUENTES

ELENA MARÍA VARA AMEIGEIRAS

Facultad de Medicina UCM

elimar06@ucm.es, ccostero@ucm.es

Resumen: El linfoma de Hodgkin es una enfermedad neoplásica maligna. Afecta al sistema linfático, que es parte del sistema inmunitario. Destaca la afectación en los órganos linfáticos, aunque puede haber otros afectados como la médula ósea, bazo o timo. Es una enfermedad rara que afecta a aproximadamente 9.000 nuevos pacientes anualmente. Sólo representa un 11% de todos los casos de linfomas registrados en Estados Unidos. Comprende a su vez dos subtipos, el linfoma de Hodgkin clásico y el predominio linfocítico nodular.

Dentro del clásico, se pueden distinguir varios subgrupos: esclerosis nodular, celularidad mixta, con agotamiento de linfocitos y rico en linfocitos.

El diagnóstico del estadio es fundamental para la correcta elección del tratamiento. Los pacientes cuya enfermedad se encuentra en un estadio poco avanzado, reciben un tratamiento breve de quimioterapia combinado o no con radioterapia. En contraste, en los estadios más avanzados, el tratamiento de quimioterapia suele ser mucho más prolongado, y también combinado con radioterapia. En el caso de pacientes que sufran recidivas, se opta por un tratamiento quimioterapéutico de altas dosis junto con un trasplante autólogo de células stem. (Ansell, 2015)

Palabras clave: Linfoma de Hodgkin, Reed-Sternberg

Abstract: Hodgkin lymphoma is a tumoral disease that affects the lymphatic system. It mostly harms lymphatic organs, but there may be some others affected like the bone marrow, the spleen or the thymus. It is not very common, and it is diagnosed approximately in 9000 patients every year which is only 11% of all lymphomas in the United States. It

comprises two different types, classical Hodgkin lymphoma and nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma.

It is possible to subdivide the classical one in four different subgroups: nodular sclerosis, mixed cellularity, lymphocyte depletion, and lymphocyte-rich Hodgkin lymphoma.

The diagnosis and the staging are essential for the choice of the accurate therapy. Patients with lower stage receive a brief chemotherapy treatment which may be combined with radiotherapy or not. In contrast, high stages are treated with a longer chemotherapy treatment and radiotherapy. In case patients suffer a recurrence, the treatment is based on chemotherapy in high doses and an autologous transplant. (Ansell, 2015)

Key words: Hodgkin lymphoma, Reed-Sternberg

1. INTRODUCCIÓN

Casi la totalidad de los pacientes presentan linfadenopatías supradiafragmáticas, cervicales, mediastínicas, supraclaviculares y axilares. Mientras que en el área inguinal son menos frecuentes. (Ansell, 2015; Ansell, 2016). Las adenopatías no suelen ser dolorosas, pero si hay consumición de alcohol sí que puede doler, conocido como el signo de Oster. (Rueda, 2017) También es frecuente encontrar afectación en el mediastino.

Existen dos tipos, el linfoma de Hodgkin clásico, que suele ser el 95% de los casos y el linfoma de Hodgkin con predominio linfocítico nodular. A su vez, el clásico puede subclasificar en esclerosis nodular: es el más frecuente (80%), se suele dar en el mediastino; celularidad mixta: se suele dar en edades avanzadas; rico en linfocitos: es menos frecuente y se da en varones mayoritariamente, recibe ese nombre debido a la cantidad de linfocitos no afectados aparte de las células tumorales; con agotamiento de linfocitos o depleción linfocítica: es la menos frecuente y se da en adultos mayores y pacientes afectados por VIH. Las células malignas del linfoma de Hodgkin clásico se llaman células *Reed Sternberg*, las cuáles derivan de linfocitos B alterados. (MD Anderson Cancer Center, 2018)

El linfoma de Hodgkin con predominio linfocítico nodular, tiene una incidencia del 5%. Suele darse en hombres, y las células tumorales reciben el nombre de células “popcorn” debido a la forma de su núcleo. (Rueda, 2017)

Los síntomas incluyen fiebre, abundantes sudores en la noche, pérdida de peso, prurito y sensación de cansancio o astenia. En el caso de que haya afectación del mediastino, se puede producir disnea o tos. Normalmente, se mantienen en los nódulos linfáticos contiguos, pero hay ciertos tejidos a los que es posible que se ex-

tienda. Estos son los pulmones, la médula ósea, el bazo, el timo o el hígado. (Rueda, 2017)

2. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico inicial se realiza mediante una biopsia principalmente, que se debe complementar analizando la existencia de células *Reed-Sternberg* malignas. La mayoría de las veces, se realiza una aspiración y biopsia de la médula ósea, para confirmar o descartar una extensión a la médula ósea. (American Society of Clinical Oncology, 2017)

Se deben tener en cuenta una serie de factores de riesgo que pueden aumentar la probabilidad de padecer esta enfermedad. Son ser varón; tener afectación familiar; suele darse en países desarrollados en familias con mayor poder socioeconómico, se piensa que puede ser por factores socioambientales; ser adulto joven (15-40 años), aunque también hay un grupo de personas con más de 55 años; infección por VIH. (Rueda, 2017)

Un importante factor es haber padecido infección por el virus Epstein-Barr (mononucleosis infecciosa), ya que se ha estudiado que un tercio de los afectados por el linfoma presentan anticuerpos o parte del virus en las células malignas del linfoma. (Nagpal *et al.*, 2016)

Una vez confirmado, se procede a establecer el estadio. El sistema de estadiaje de Ann Arbor con algunas modificaciones es la clasificación que se utiliza actualmente. Consiste en cuatro estadios, donde el primero y el segundo indican una enfermedad menos avanzada y el tercero y cuarto un tumor en una etapa avanzada. El primero incluye una sola región linfocítica afectada como el timo o ganglios, o afectación en un órgano no relacionado con ganglios linfáticos; el estadio II consiste en dos regiones ganglionares afectadas en el mismo lado con respecto al diafragma o un órgano extralinfático afectado en el mismo lado del diafragma; el estadio III incluye varias regiones a ambos lados del diafragma que puede estar extendido a regiones con implicación linfocítica o implicación del bazo; por último, en el estadio IV los pacientes presentan varios órganos extralinfáticos afectados, además de la implicación de la médula ósea o el hígado. (Ansell, 2016; Fundación Josep Carreras, 2018)

Aparte los pacientes se clasifican por gravedad, A o B, según la extensión, si hay una masa Bulky (masa mediastínica con un diámetro mayor de 10 cm) o si existe presencia de síntomas B, que son los síntomas citados previamente. Los pacientes de bajo riesgo son aquellos en estadio IA/IIA sin masa Bulky y los del riesgo más elevado son los estadios IIIB y IVB. (Ansell, 2016)

Normalmente, el estadiaje se realiza utilizando fluorodesoxiglucosa en una tomografía computarizada por emisión de positrones, sobre todo en pacientes pediátricos. Proporciona información tanto funcional como anatómica del tumor para poder establecer el tratamiento adecuado. (Nagpal *et al.*, 2016)

3. TRATAMIENTO

El tratamiento más utilizado es la radioterapia. Antes se irradiaban todas las áreas ganglionares, sanas y enfermas, hoy en día está restringida sólo a las zonas tumorales, así se consigue un tratamiento menos tóxico y más eficaz. Este tipo de radioterapia se llama radioterapia de campo afectado. (Rueda, 2017)

Los tratamientos de radioterapia, consisten en una dosis de entre 25 Gy y 30 Gy en las regiones no implicadas directamente, y de 35 a 44 Gy en regiones con afectación linfática inicial. Pueden ser IF-XRT o EF-XRT, que se refiere a si se trata de una región con afectación directa o si es una región a la que se ha extendido. Estas dosis son las recomendadas en adultos, pero normalmente se adaptan en pacientes pediátricos o con estadio avanzado que estén recibiendo quimioterapia. Normalmente, está dirigida a la región cervical, torácica y axilar. También se localiza en el abdomen y bazo. A veces se trata la región pélvica, aunque se suele evitar en los pacientes con buen pronóstico, por riesgo a pérdida de fertilidad. En la región torácica, puede producir daño en los pulmones o en el corazón. (National Cancer Institute, 2002)

El estudio de la actividad cardíaca y pulmonar, se incluye dentro del tratamiento del paciente, si ha recibido quimioterapia. Se utilizan las técnicas de ecocardiograma o ventriculografía isotópica (MUGA) para el corazón; y pruebas de funcionamiento pulmonar, para el pulmón. (American Society of Clinical Oncology, 2017)

El tratamiento de radioterapia, viene seguido por los tratamientos quimioterapéuticos, pueden ser de varios tipos dependiendo de los fármacos en los que consistan. Existen varios tipos:

ABVD, que contiene adriamicina, bleomicina, vinblastina y dacarbazina, suele ser el tratamiento mayoritario; BEACOPP, contiene bleomicina, etopósido, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazona y prednisona, este se utiliza en estadios más avanzados al ser más activo y tóxico que el anterior; MOPP, mecloretamina, vincristina, procarbazona y prednisona; Stanford V consistente en adriamicina, vinblastina, mecloretamina, vincristina, bleomicina, etopósido y prednisona, en Estados Unidos es una de las más utilizadas. Se utiliza conjuntamente con radioterapia; ESHAP (etopósido, metilprednisolona, arabinósido de citosina y cisplatino) y ICE (ifosfamida, carboplatino y etopósido), estos dos suelen ser utilizados en recaídas. Tienen alta toxicidad. Otras con baja toxicidad son MINE (mitoxatrone, ifosfamida y etopósido) y GPD (gemcitabina, cisplatino y dexametasona). BEAM (BCNU, etopósido, arabinósido de citosina y melfalan) se utiliza en recaídas y en altas dosis antes del trasplante con células progenitoras hematopoyéticas. (Rueda, 2017)

Los pacientes en los estadios III o IV con Bulky o con síntomas B, recibirán un tratamiento de quimioterapia, acompañado o no con tratamiento de radioterapia. En cambio, los pacientes en estadio IA o IIA sin Bulky, serán tratados con un tratamiento de quimioterapia o radioterapia solamente. (Ansell, 2016)

En los estadios iniciales si tratamos con un individuo de pronóstico favorable se le puede dar un tratamiento combinado, que consiste en 2 ciclos de ABDV y radioterapia; o solo quimioterapia, donde se dan 4 ciclos de ABDV (se debe alcanzar la remisión completa). La segunda opción tiene un 5% más de recaídas, pero menos efectos secundarios. En el caso de que el pronóstico sea desfavorable, el tratamiento combinado constará de 4 ciclos y el de quimioterapia de 6 (se debe alcanzar a remisión después del segundo ciclo). (Rueda, 2017)

En el caso de que el paciente este en un estadio avanzado, se utilizaran entre 6-8 ciclos de ABDV o BEACOPP (más tóxico). Solo se utilizará radioterapia en caso de que tras la quimioterapia la remisión sea parcial. (Rueda, 2017)

Si la enfermedad en el paciente es reincidente o resistente, se utiliza un trasplante con células progenitoras hematopoyéticas. Para ello, se extraen células troncales de la médula ósea. Tras una quimioterapia de gran dosis se le inyectan las células para ayudar

a la síntesis de células sanguíneas. Se puede completar a quimioterapia o radioterapia. En estos casos de recaída, se han empezado a utilizar inmunotoxinas que producen la muerte de la célula *Reed-Sternberg*. El anticuerpo más utilizado es Brentuximab Vedotin. Otro tratamiento es la activación del sistema inmune por fármacos que promueve la muerte de la célula tumoral. Esto se realiza bloqueando la proteína PD1 de los linfocitos citotóxicos, para que así no se pueda unir a la proteína PDL1 de las células malignas y esos linfocitos lleven a cabo su función. (Ansell, 2015)

El linfoma de Hodgkin, al afectar predominantemente a adultos jóvenes, es posible que haya pacientes que sean mujeres embarazadas. Esta es una situación donde se debe plantear correctamente el tratamiento y debe ser individualizado, para provocar el menor daño posible en el feto.

Una vez finalizado el tratamiento, debe existir un seguimiento del paciente para vigilar los efectos secundarios y las recaídas. Estos seguimientos se suelen realizar mediante pruebas PET y TC. (American Society of Clinical Oncology, 2017)

El tratamiento de esta enfermedad lleva consigo algunos efectos secundarios, algunos de ellos pueden ser permanentes, y pueden aparecer mucho tiempo después de que el tratamiento haya finalizado. Algunos de estos efectos secundarios son el desarrollo de otro tipo de cáncer con el tiempo, pérdida de fertilidad, facilidad para contraer infecciones, problemas de glándula tiroides o problemas en el corazón y los pulmones. En los pacientes infantiles, pueden aparecer problemas psicológicos o emocionales. (Rueda, 2017)

Actualmente se sigue investigando para que el diagnóstico de esta enfermedad sea más precoz y el tratamiento más eficaz y menos dañino. Por ello, se estudian posibles avances en las técnicas de exploración, PET para seguimiento temprano del tratamiento; en quimioterapia, menores dosis y efectos secundarios; y en inmunoterapia, con radioinmunoterapia (anticuerpo más sustancia radiactiva contra el linfoma) o tratamiento de dianas moleculares (como lo mencionado anteriormente). (Rueda, 2017)

Finalmente, con respecto al pronóstico, los pacientes con linfoma de Hodgkin presentan una curación completa y permanente entre un 80% y un 90%. (American Society of Clinical Oncology, 2017)

4. CONCLUSIÓN

El linfoma de Hodgkin es una enfermedad tumoral maligna rara. El sistema linfático es el afectado, y se manifiesta por una serie de síntomas como fiebre, pérdida de peso o inflamación de los ganglios linfáticos. Se debe a la mutación de los linfocitos B que da lugar a células cancerosas, las células *Reed-Sternberg*. Se puede dividir en clásico o con predominio linfocítico nodular.

Una vez realizado el diagnóstico, el estadiaje es imprescindible para su posterior tratamiento. Existen cuatro estadios que se clasifica, según: el desarrollo de las masas tumorales y su extensión, los síntomas y si existe masa Bulky o no. La técnica más utilizada es la biopsia.

Los tratamientos principales suelen ser la radioterapia y la quimioterapia. Y, a veces, se utilizan conjuntamente. Los tratamientos se determinan por el tipo de linfoma que sufra el paciente, su diagnóstico, estadio y pronóstico.

La curación, en la mayoría de los casos, es prácticamente completa y sin recidivas, aunque pueden aparecer algunos efectos secundarios a largo plazo, como infertilidad o desarrollo de un cáncer secundario. Es por ello, que se debe llevar un seguimiento.

Actualmente, se están probando nuevas terapias menos tóxicas y más eficaces.

Desde nuestro punto de vista tras haber padecido esta enfermedad, pienso que el diagnóstico temprano es fundamental, así como buena ayuda psicológica, especialmente en casos de pacientes infantiles.

BIBLIOGRAFÍA

- Ansell, S.M. 2015. Hodgkin Lymphoma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*. 90: 1574-1583. doi: 10.1016/j.mayocp.2015.07.005
- Ansell, S.M. 2016. Hodgkin lymphoma: 2016 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *American Journal of Hematology*. 91: 434-442. doi: 10.1002/ajh.24272
- ASCO. 2005-2014. *Linfoma de Hodgkin: Diagnóstico*. Alexandria, USA. American Society of Clinical Oncology (ASCO). Disponible en: <https://www.cancer.net/es/tipos-de-cáncer/linfoma-de-hodgkin/diagnóstico> (acceso 6 marzo 2018)
- Fundación Internacional Josep Carreras. 2018. *Linfoma de Hodgkin*. Barcelona, ESP. Fundación Josep Carreras. Disponible en: <http://www.fcarreras.org/es/linfomadehodgkin> (acceso 6 marzo 2018)

- MD Anderson Cancer Center. 2018. *Linfoma de Hodgkin*. Texas, USA. The University of Texas MD Anderson Cancer Center. Disponible en: <https://www.mdanderson.org/languages/spanish/tipos-de-cancer/linfoma-de-hodgkin/index.html> (acceso 6 marzo 2018)
- Nagpal, P., Aki, M.R., Ayoub, N.M. *et al.* 2016. Pediatric Hodgkin lymphoma-biomarkers, drugs, and clinical trials for translational science and medicine. *Oncotarget*. 7: 67551-67573. doi: 10.18632/oncotarget.11509
- National Cancer Institute. 2002. *Adult Hodgkin Lymphoma Treatment*. Bethesda, USA. PDQ Cancer Information Summaries. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK66038/> (acceso 6 marzo 2018)
- Rueda, A. 2017. *Linfoma de Hodgkin*. Madrid, ESP. Sociedad Española de Oncología Médica. Disponible en: <https://www.seom.org/en/info-sobre-el-cancer/linfoma-hodgkin?format=pdf> (acceso 6 marzo 2018)

Melatonina en uvas y vino

Melatonin in grapes and wine

MARÍA MARTÍN SANTAMARÍA

Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid
marima36@ucm.es

Resumen: La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una indolamina con acciones fisiológicas y celulares en animales y plantas. Como metabolito secundario de plantas se encuentra en hojas, frutos y semillas. En uva (*Vitis vinifera* L.) se encuentran concentraciones variables de melatonina en función de la variedad y del tejido (piel, pulpa o semilla). Se detectó por primera vez en la piel de ocho variedades de *V. vinifera*, entre ellas, Merlot, Cabernet Franc y Cabernet Sauvignon, a niveles entre 0,005 y 0,965 ng/g. El contenido de melatonina de la uva completa puede alcanzar concentraciones de 100-150 ng/g. Estas diferencias se deben a factores endógenos y externos como los rasgos genéticos, el estado fenológico, infecciones por patógenos, tratamientos fitosanitarios, condiciones climáticas y ambientales y la edad de cultivo. La melatonina presenta funciones ecofisiológicas en la planta estando implicada en diferentes procesos relacionados con la germinación de las semillas, la fotoprotección, los ritmos circadianos, el tiempo de floración o la maduración de frutos. De otra parte, la melatonina parece implicada en la respuesta al estrés actuando como primera barrera frente a las especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (NRS) y regulando la expresión de genes de respuesta al estrés. Algunas de estas actividades son mediadas por receptores, pero otras, como la interacción con ROS, son independientes. La melatonina también se encuentra en vino en concentraciones que oscilan entre 0,1 y 400 ng/ml según el tipo o clase de vino, así como isómeros de melatonina. Este contenido parece depender más del proceso de vinificación, de *Saccharomyces cerevisiae* que, de la variedad de uva, aunque otros factores también pueden ser determinantes. Además de encontrarse en uvas y vino, la melatonina también se encuentra en otras bebidas derivadas de uva como jugos, vinagre o Grappa.

Palabras clave: melatonina, vino, uvas, *Saccharomyces*, bioactivos

Abstract: Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) is an indolamine with physiological and cellular actions in animals and plants. As a secondary metabolite of plants, it is found in leaves, fruits and seeds. In grapes (*Vitis vinifera* L.) there are varying concentrations of melatonin according to variety and tissue (skin, pulp or seed). It was detected for the first time in the skin of eight varieties of *V. vinifera*, including Merlot,

Cabernet Franc and Cabernet Sauvignon, at levels between 0.005 and 0.965 ng/g. The melatonin content of the whole grape can reach concentrations of 100-150 ng/g. These differences are due to endogenous and external factors such as genetic traits, phenological status, pathogen infections, phytosanitary treatments, climatic and environmental conditions and age of the crop. Melatonin has ecophysiological functions in the plant being involved in different processes as seed germination, photoprotection, circadian rhythms, flowering time or fruit ripening. On the other hand, melatonin appears to be involved in the stress response by acting as a first barrier against reactive oxygen (ROS) and nitrogen (NRS) species and by regulating the expression of stress response genes. Some of these activities are receptor-mediated but others, such as interaction with ROS, are independent. Melatonin is also found in wine in concentrations ranging from 0.1 to 400 ng/ml depending on the type or class of wine, as well as melatonin isomers. This content seems to depend more on the winemaking process, *Saccharomyces cerevisiae*, than on the grape variety, although other factors may also be decisive. In addition to being found in grapes and wine, melatonin is also found in other grape-related foodstuffs such as juice, vinegar or grappa.

Key Words: melatonin, wine, grapes, *Saccharomyces*, bioactives

1. INTRODUCCIÓN

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una indolamina de bajo peso molecular sintetizada por el metabolismo del L-triptófano a partir de serotonina (Figura 1). Es considerada una molécula pleiotrópica con múltiples acciones fisiológicas y celulares en plantas y animales actuando como neurohormona, cronobiótico y antioxidante (Rodríguez-Naranjo *et al.*, 2011). En el caso de plantas, la melatonina interviene y se relaciona con procesos tales como la germinación de semillas, la arquitectura de raíces primarias y laterales, la fotoprotección de tejidos y estructuras, ritmos circadianos, el tiempo de floración, la producción de biomasa, la senescencia de las hojas o la maduración de los frutos. Además, la melatonina parece implicada en la respuesta al estrés actuando como primera barrera frente a las especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (NRS) y regulando la expresión de genes de respuesta al estrés (Shi *et al.*, 2017). A pesar de su descubrimiento en animales, la melatonina emergió evolutivamente antes en las plantas, y por ello, evolutivamente, se considera un compuesto fitoquímico.

En uvas (*Vitis vinifera*) la melatonina se detectó por primera vez en el 2006 en concentraciones variables en función de la variedad y del tejido (piel, pulpa o semilla) (Figura 2). Se cuantificó por primera vez en la piel de ocho variedades de *V. vinifera*, entre ellas Mer-

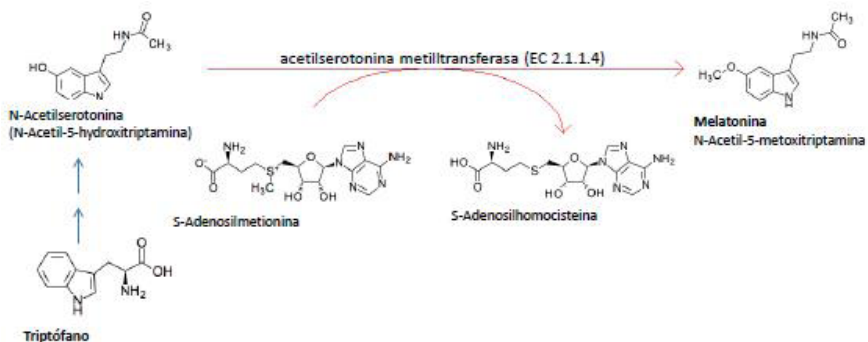
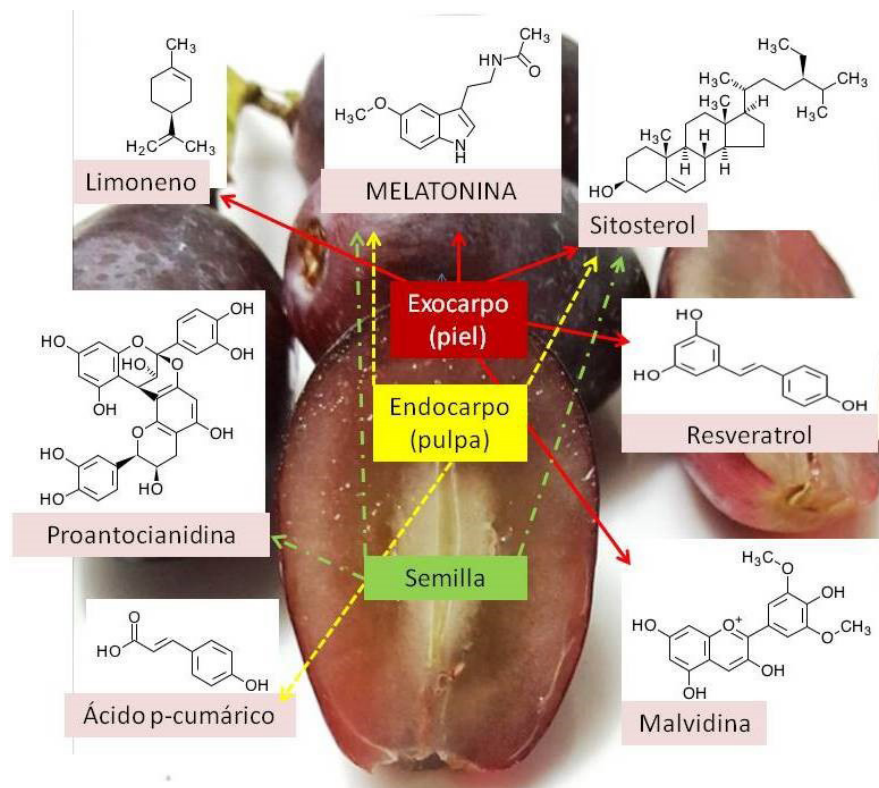


Figura 1. Biosíntesis y estructura química de la melatonina



lot, Cabernet Franc y Cabernet Sauvignon, a niveles entre 0,005 y 0,965 ng/g. El contenido de melatonina de la uva completa puede alcanzar concentraciones de 100-150 ng/g (Meng *et al.*, 2017).

El vino es una importante bebida de producción y consumo universal con una composición en compuestos nutricionales y no nutricionales únicos que fundamentan sus características organolépticas y sus propiedades beneficiosas para la salud (Meng *et al.*, 2017). En 2008 se descubrió que la melatonina estaba presente en el vino al igual que otros compuestos bioactivos como el resveratrol y el hidroxitirosol (Meng *et al.*, 2017). Las propiedades aromáticas, cromáticas y otras organolépticas son rasgos cualitativos que dependen estrictamente de los fitoquímicos de las uvas (Iriti *et al.*, 2016). Muchas de estas moléculas son fenoles, isopropanoides, flavonoides... y también melatonina, presente así mismo en otros productos derivados de la uva como jugo, Grappa o vinagre (Meng *et al.* 2017).

2. MELATONINA EN VINO Y OTROS PRODUCTOS DERIVADOS DE LA UVA

La presencia de melatonina en vinos se detectó por primera vez en el Sangiovese (vino tinto) y en Trebbiano (vino blanco) con una concentración de 0,5 y 0,4 ng/ml respectivamente. Aunque, posteriormente se han encontrado valores superiores en Chardonnay, Malbec y Cabernet Sauvignon, estos son del orden de 0,16, 0,24 o 0,32 ng/ml. Analizando distintos tipos de vinos se han encontrado que las mayores concentraciones están en las variedades de Gropello y Merlot, con concentraciones de 4,1 y 8,1 ng/ml (Meng *et al.*, 2017). Dependiendo de tratamientos del cultivo y del proceso de vinificación se pueden registrar concentraciones de melatonina mucho más altas de 130 a 420 ng/ml (Tabla 1).

Otros productos derivados de las uvas como vinagre balsámico, zumo de uva y Grappa contienen también melatonina (Tabla 1). La piel de las uvas contiene melatonina en un rango aproximado de 120-160 ng/g aunque esta melatonina no se encuentra en el mosto; en éste sin embargo aparecen isómeros de melatonina (triptófano-etil ésteres) en concentraciones de 18-24 ng/ml (Meng *et al.*, 2017). Se ha demostrado que la melatonina se absorbe bien tras la ingestión oral de productos que la contienen, detectándose concentraciones plasmáticas que varían desde 155 ng/ml hasta

720 ng/ml dependiendo de la ingesta y de otros factores como el sexo (Fernández-Mar *et al.*, 2012).

Tabla 1. Melatonina en productos derivados de la uva

Vinos y otros productos	Melatonina (ng/ml)
<i>Sangiovese</i> (tinto) y <i>Trebbiano</i> (blanco)	0.4-0.5
<i>Groppello</i> y <i>Merlot</i>	4.1-8.1
<i>Malbec</i> (tinto), <i>Cabernet Sauvignon</i> (tinto), <i>Chardonnay</i> (blanco)	0.16, 0.24, 0,32
Vinagre balsámico	0.11-0.13
Brandy (<i>Grappa</i>)	0.3
Zumo de uva	0.5

3. DISCUSIÓN

La melatonina es un compuesto bioactivo con capacidad antioxidante presente de forma natural en el vino junto con otros antioxidantes como resveratrol e hidroxitirosol, todos ellos con efecto citoprotector frente al estrés oxidativo. De otra parte, diversos estudios han puesto de manifiesto el papel de la melatonina como inhibidor de la proliferación de tumores y su actividad neuroprotectora. Siendo el vino parte de la dieta mediterránea y en base a su contenido en bioactivos, su consumo moderado contribuye a los beneficios que esta dieta presenta para la salud humana. En relación con la actividad antioxidante, la naturaleza anfipática de la molécula le permite atravesar barreras celulares de manera que se ha encontrado en núcleo, citoplasma, membranas y mitocondrias, lo cual significa que la melatonina puede estar en lugares en los que se forman radicales libres aportando a la célula mecanismos de defensa antioxidante donde se necesita y así proteger de una forma más completa que otros antioxidantes dietéticos que no presentan esta característica. En relación con el papel de la melatonina en carcinogénesis, se ha observado que los niveles fisiológicos de melatonina retrasan el crecimiento de tumores a través de diversos mecanismos. Durante la vejez los niveles de melatonina disminuyen de forma natural y esta etapa es coincidente con una mayor aparición de tumores. En esta circunstancia se ha visto que la efectividad del retraso de tumores por melatonina depende además del momento

del día en el que se suministra melatonina o se ingieren alimentos que la contienen, siendo más efectivo el final del periodo luminoso o del día. La melatonina también presenta actividad inmunomodulatoria mediada por receptores nucleares y de membrana, y se ha observado que activa la proliferación de células T, B, NK o monocitos. No obstante, hay algunas patologías humanas como la enfermedad de Crohn en las que la melatonina incrementa algunos efectos negativos. Así mismo, la melatonina desempeña un papel importante en la actividad neuroprotectora, particularmente en la relacionada con los desórdenes del sueño ya que disminuye el periodo de latencia del sueño y aumenta el sueño especialmente cuando los ritmos circadianos se han visto perturbados. En recientes investigaciones se ha observado y se está estudiando un efecto mitigador de enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson o el Alzheimer abriendo una nueva vía de esperanza para la prevención y/o tratamiento de estas enfermedades (Fernández-Mar *et al.*, 2012).

Algunos factores que afectan a concentración de la melatonina en vino pueden estar relacionados con la fermentación alcohólica del proceso de vinificación pues se cree que el etanol que se produce es el responsable de la extracción y transferencia de la melatonina desde la piel de las uvas y las semillas al mosto, por lo que la concentración de melatonina aumenta exponencialmente durante la fermentación. La ausencia de melatonina en el mosto también se puede explicar porque la melatonina se transforma en isómeros por la acción de enzimas ácidas que se activan durante la fermentación (Meng *et al.*, 2017).

En plantas, y en particular en vid, la melatonina está relacionada con la recuperación de los daños causados por el frío a través del mantenimiento de la estabilidad de las células de la membrana, aumentando la actividad del fotosistema II e incrementando la actividad de enzimas antioxidantes. También se ha encontrado que la melatonina regula la arquitectura de la raíz a través de la modulación de la respuesta a auxinas (Shi *et al.*, 2017).

4. CONCLUSIONES

La melatonina es un compuesto presente de forma natural en numerosos frutos, uva entre ellos, así como en productos derivados de la uva como el vino. El contenido en melatonina está influenciado

do por factores tales como las variedades de uva, el grado de madurez, rasgos genéticos y condiciones de crecimiento o ambientales. En la actualidad, el estudio de la síntesis, metabolismo, distribución y funciones de la melatonina en plantas en general, y en particular en uvas, vino y otros productos derivados de la uva, toma especial relevancia en base a las actividades biológicas de esta molécula que la postulan como compuesto bioactivo a destacar en el ámbito de la nutracéutica por una parte, y en el contexto del control del desarrollo vegetal por otro, constituyendo una nueva frontera por explorar.

BIBLIOGRAFÍA

- Fernández-Mar, M., Mateos, R., García-Parilla, M., Puertas, B. & Cantos-Villar, E. 2012. Bioactive compounds in wine: Reveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. *Food Chemistry*. 130 (4): 797-813.
- Iriti, M. & Varoni, E. M. 2016. The good health of Bacchus: Melatonin in grapes, the unveiled myth. *LWT-Food Science and Technology*. 65: 758-761.
- Meng, J-F, Shi, T-C., Song, S., Zhang, Z-W. & Fang, Y-L. 2017. Melatonin in grapes and grape-related foodstuffs: A review. *Food Chemistry*. 231: 185-191.
- Rodriguez-Naranjo, M. I., Gil-Izquierdo, A., Trocoso, A. M., Cantos, E. & Garcia-Parrilla, M. C. 2011. Melatonin: A new bioactive compound. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24(4): 603-608.
- Shi, H., Love, J. & Hu, W. 2017. Editorial: Melatonin in plants. *Frontiers in Plant Science*. 8:1666. doi: 10.3389/fpls.2017.01666

Exploración de diversidad microbiana buscando nuevos antibióticos en suelos dentro del proyecto Small World Initiative

Exploration of microbial diversity searching new antimicrobial in soils within the Small World Initiative project

PABLO MINGOTE LLADÓ Y JOSE CARLOS DE GRACIA DÍAZ

Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia

pmingote@ucm.es

Tutor: Víctor Jiménez Cid

Resumen: La OMS (Organización Mundial de la Salud) ha lanzado una alerta contra un grupo de microorganismos que amenazan con superar a los antibióticos que conocemos hasta ahora. El proyecto Small World Initiative® (SWI) se centra en la búsqueda de nuevos antimicrobianos producidos por bacterias que se encuentran en el suelo. El proyecto se combina con una concienciación social a través de una técnica de investigación llamada “crowdsourcing”, que implica una investigación coordinada entre alumnos de institutos de ESO y Bachillerato con estudiantes de grado y profesores pertenecientes al ámbito de las Ciencias de la salud de diferentes Universidades del mundo.

En nuestro proyecto han participado un total de 34 estudiantes del IES Lázaro Cárdenas en parejas de 2 (17 parejas) aislando un total de 340 microorganismos. Han presentado actividad antimicrobiana un total de 15 tipos de bacterias que han sido reaisladas y enfrentadas a microorganismos de la familia de los ESKAPE (E: *Enterococcus faecium*. S: *Staphylococcus aureus*. K: *Klebsiella pneumoniae*. A: *Acinetobacter baumannii*. P: *Pseudomonas aeruginosa*. E: *Enterobacter spp*, representando a la familia de las Enterobacterias) que no son patógenos. Posteriormente realizamos ensayos para ver el espectro de inhibición de cada colonia que hemos encontrado y tratamos de identificarlas con métodos de biología molecular.

Palabras clave: antimicrobiano, crowdsourcing, OneHealth, resistencia, salud pública.

Abstract: The WHO (World Health Organization) has thrown an alert against a group of microorganisms that threat to overcome the antibiotics

that we know till now. The project **Small World Initiative®** (SWI) centres on the search of new antimicrobial produced by bacteria that they find in the soil. The project combines with a social raising awareness across a technology of so called investigation “crowdsourcing”, which implies an investigation coordinated between pupils of institutes of Secondary School and Baccalaureate with students of degree and teachers who belong to the area of the Sciences of Health of different Universities of the world. In our project there have taken part a total of 34 students of the IES Lázaro Cárdenas in pairs of 2 (17 pairs) isolating a total of 340 microorganisms. A total of 15 types of bacteria have produced antimicrobial activity that have been re-isolated and faced to microorganisms of the family of the ESKAPE (E: *Enterococcus faecium*, S: *Staphylococcus aureus*, K: *Klebsiella pneumoniae*, A: *Acinetobacter baumannii*, P: *Pseudomonas aeruginosa*, E: *Enterobacter spp*), representing to Enterobacterial family) that are not pathogenic. Later we realize tests to see the spectrum of inhibition of every colony that we have found and try to identify them with methods of molecular biology.

Key words: antimicrobial, crowdsourcing, OneHealth, resistance, public health.

1. INTRODUCCIÓN

El proyecto Small World Initiative® (SWI) nació en 2012 en la universidad de Yale de la mano de la doctora Jo Handelsman. Combina tecnología, ciencia e innovación para obtener resultados significativos y medibles en el campo de la salud y de la educación social.

La Universidad Complutense fue la primera en implantar este proyecto en nuestro país. El SWI involucró a un gran número de estudiantes (entre 500 estudiantes pertenecientes a la ESO y a Bachillerato) y gracias a ellos se recogieron alrededor de 250 muestras de suelo. De ellas se obtuvieron treintenas de microorganismos capaces de inhibir a otros. Todo esto el año pasado.

Este proyecto cuenta con el apoyo de la Agencia Española de los Medicamentos y Productos Sanitarios y las empresas Biomerieux y Merck, Sharp & Dohme, y gracias a ellos se creó la Red SWI@Spain, en la que participan de una manera coordinada una veintena de universidades de España. En el curso 2017-18 ponemos en marcha SWI@UCM 2.0. Tenemos la intención de concienciar a la sociedad del problema que posee ahora mismo: la resistencia microbiana frente a los antibióticos. Estos problemas han sido reconocidos ya por la OMS y el Foro de Naciones Unidas y nosotros estamos dispuestos a solucionarlo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo de este proyecto se llevo a cabo con material de la universidad, concretamente con del departamento de Microbiología II de la Facultad de Farmacia, en los centros educativos asignados.

2.1. Seguridad

Lo fundamental es trabajar en condiciones de seguridad y esterilidad (en la medida de lo posible) para evitar posibles infecciones accidentales. Esto lo conseguimos esterilizando el área con alcohol y trabajando con guantes y batas.

2.2. Toma de muestra

Se coge una muestra de 1g de suelo a 5 cm de profundidad, y se registra la zona exacta. Se diluye la muestra de 100 en 100 μL de manera seriada hasta alcanzar una concentración de 10^{-5} μL .

2.3. Siembra en agar-TSA

Una vez que tuvo cada pareja sus diluciones, se procedió a distribuir de forma homogénea las diluciones en varias placas de AGAR-TSA, donde se cultivarán a 37°C durante una semana hasta que se formen colonias. Una placa de AGAR-TSA (Trypticasein soy agar) es una placa transparente con un gel solidificado que proporciona a las bacterias los nutrientes necesarios para crecer sin problemas. Una vez crecidas las placas diferenciamos todos los tipos diferentes de colonias por su morfología y consistencia.

2.4. Enfrentamiento a microorganismos tipo

Se enfrentan las colonias obtenidas frente a unos césped de microorganismos de las familias de los EXCAPE sembrados con una torunda. Para ello rotulamos una nueva placa de AGAR-TSA con 16 cuadrículas. Cada cuadrícula alojará a un tipo de colonia específica que será trasladada desde la placa cultivada a la nueva con un palillo estéril.

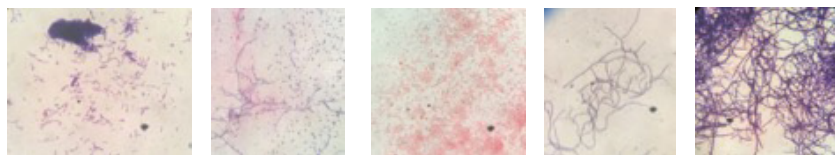
2.5. *Reaislamiento*

Tras observar cuales producen halo de inhibición, las resembramos en placas de BHA (Brain Heart Infusion) para aislarlas y que creciesen en cultivo puro.

2.6. *Identificación del tipo GRAM (figuras 1-5)*

Se realiza una tinción estándar Gram y posteriormente una prueba oxidasa para los Gram negativos. La prueba de la oxidasa se realiza con una tira comercial.

2.7. *Aislamiento y secuenciación de DNA*



Figuras 1 a 5. Colonias 1 a 5.

Una vez crecidas las colonias productoras de halos de inhibición procedemos a identificarlas mediante métodos moleculares como la PCR y la posterior secuenciación del DNA correspondiente al RNAr16S.

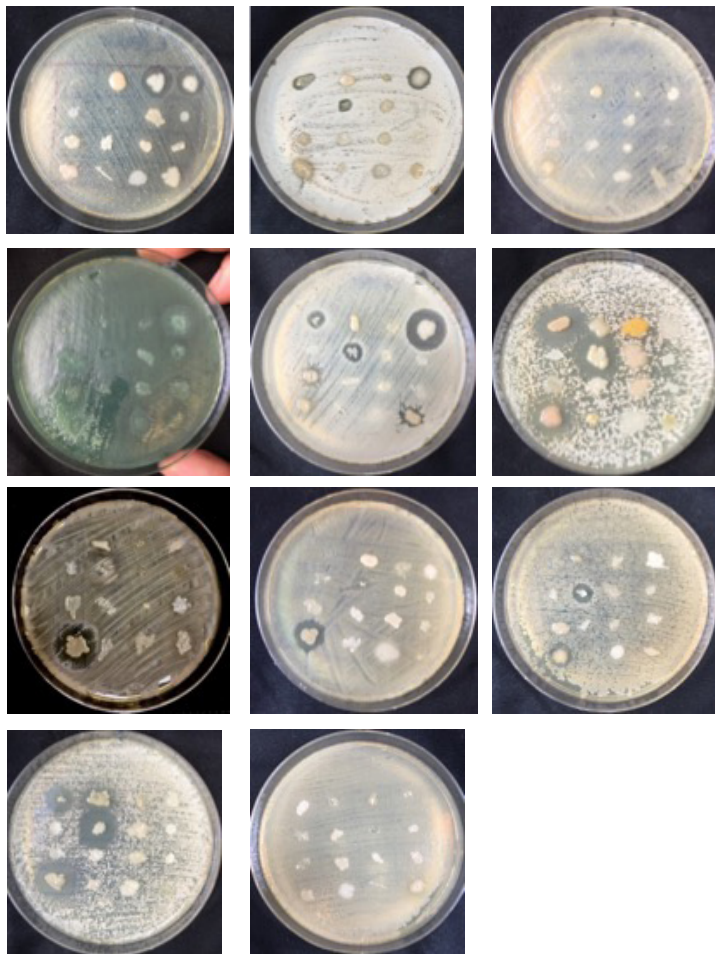
El DNA obtenido por lisis de las células por calor fue sometido a una PCR (Polymerase Chain Reaction) para aislar y secuenciar el DNA correspondiente al RNAr16s.

Muestra obtenida en condiciones estériles, termociclador, tubos y reactivos para PCR (polimerasa Taq, tampón para Taq, dNTPs), oligonucleótidos universales: forward primer, 5'-GAG AGT TTG ATY MTG GCT CAG-3', reverse primer, 5'-GAA GGA GGT GWT CCA RCC GCA-3', agua sin DNasas, material para electroforesis en gel de agarosa (cuna, cubeta, peine, tampón TAE y tampón de carga), tampón TAE: 40 mM Tris- acetato, 1m M EDTA, agarosa, solución de GelRed Staining solution, tampón de carga 10 x: 50% sacarosa, 50mM EDTA, 0,1% azul de bromofenol, 0,01% SDS.

3. RESULTADOS

(Figuras 6-18) El número de las figuras corresponde con el número de la tabla de inhibición.

Observamos que las colonias número 1,2,4,7,13 y 14 presentan algún tipo de inhibición debido a la presencia de un agente



Figuras 6. *Acinetobacter baylyi*. 7. *Bacillus subtilis*. 8. *Candida albicans*.

Figuras 9. *Escherichia coli* v. 10. *Enterococcus faecalis* v. 11. *Erwinia carotovora*.

Figuras 12. *K. pneumoniae* v. 13. *P. aeruginosa* v. 14. *S. aureus*.

Figuras 15. *S. cerevisiae* v. 16. *Mycobacterium smegmatis* v.

COLONIA nº	MICROORGANISMO AL QUE SE ENFRENTA									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
14	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Figura 17. Tabla de inhibición.

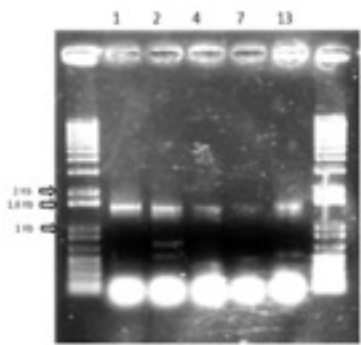


Figura 18. Electroforesis en gel de agarosa de las colonias 1,2,4,7 y 13

antimicrobiano que está dificultando el crecimiento del microorganismo sembrado.

Debido a estos descubrimientos, realizamos la PCR de las colonias 1, 2, 4, 7 y 13 puesto que a primera vista parecen las más interesantes por producir efectos antimicrobianos frente a más microorganismos.

Para comprobar la eficacia de la PCR llevamos a cabo una electroforesis en del de agarosa.

4. DISCUSIÓN

A la espera de los resultados de la secuenciación esperamos obtener nuevos microorganismos productores de agentes microbianos (antibióticos, antifúngicos, etc) capaces de inhibir a los patógenos que producen resistencia a los antimicrobianos descubiertos. Posteriormente si los resultados son favorables, se procederá a identificar el agente microbiano que ha sintetizado el microorganismo para compararlos con los ya existentes viendo si es una molécula nueva.

5. CONCLUSIONES

- 1) Las colonias 1, 2, 4, 7, 13 y 14 han producido efectos antimicrobianos.
- 2) Las bacterias Gram – son más complicadas de inhibir que las Gram + debido a la composición de su pared.
- 3) Fomentar la búsqueda de antibióticos es crucial para el futuro de la medicina y la salud pública, así como el uso racional y consecuente de los mismos para evitar resistencias.

AGRADECIMIENTOS

Al departamento de Microbiología II de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense, a los alumnos y profesores del Instituto IES Lázaro Cárdenas y Víctor Jiménez Cid por ser nuestro tutor.

BIBLIOGRAFÍA

Hernandez, S., Tsang, T., and Handelsman, J. 2015. *Small World Initiative: Research protocols*.

Relación: grosor del tendón de Aquiles con la dorsi-flexión del tobillo, mediante test de Lunge

Relationship: the thickness of the Achilles tendon with the dorsi-flexion of the ankle, by Lunge test

VANYA MITKOVA DIMITROVA Y GIANMARCO MATTA GUTIÉRREZ

Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología. UCM

vani@hotmail.es

Tutor: Raúl Molines Barroso

Resumen: La flexión dorsal del tobillo es un movimiento esencial en la biomecánica del miembro inferior; cuya limitación está fuertemente relacionada con la retracción de la musculatura posterior, convirtiéndose en un factor de riesgo de lesiones. El objetivo de este estudio fue analizar la posible relación entre el grosor del tendón de Aquiles y el movimiento dorsi-flexor de la articulación del tobillo en atletas. Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal en la Clínica Universitaria de Podología (Universidad Complutense de Madrid). Un total de 10 atletas (N = 20 pies) fueron valorados mediante el test de Lunge y una medición ecográfica. Con el análisis estadístico se vio que la muestra tenía un grosor medio del tendón de Aquiles de $0.45 \pm 0.06 \text{ cm}^2$, y una media de 40.06 ± 4.54 grados en el test de Lunge. Por consiguiente, los resultados indicaron la existencia de asociación ($P = 0.008$; $r = -0.576$) entre las dos variables de tal forma que, los deportistas con menor rango de dorsi-flexión presentaron un grosor mayor del tendón. En conclusión: la hipótesis inicial, ha sido confirmada; estableciendo una relación inversamente proporcional entre el grosor del tendón y la dorsi-flexión de tobillo.

Palabras clave: Test de Lunge en carga, Rigidez del tobillo, Grosor del tendón de Aquiles, Ultrasonidos en tendón de Aquiles.

Abstract: The dorsiflexion of the ankle is an essential movement in the biomechanics of the lower limb; whose limitation is strongly related with the retraction of the posterior musculature, becoming a risk factor for injuries. The aim of this study was to analyze the possible relationship between the thickness of the Achilles tendon and the dorsiflexion

movement of the ankle joint in athletes. An observational, descriptive and cross-sectional study was performed at the University Clinic of Podiatry (Complutense University of Madrid). A total of 10 athletes ($N = 20$ feet) were assessed using the Lunge test and an ultrasound measurement. With the statistical analysis it was seen that the sample had an average thickness of the Achilles tendon of 0.45 ± 0.06 cm², and an average of 40.06 ± 4.54 degrees in the Lunge test. Therefore, the results indicated the existence of association ($P = 0.008$, $r = -0.576$) between the two variables in such a way that, athletes with lower range of ankle dorsiflexion had a greater thickness of the Achilles tendon. In conclusion: the initial hypothesis has been confirmed; establishing an inversely proportional relationship between the thickness of the tendon and the dorsi-flexion of the ankle.

Key words: Weight Bearing Dorsiflexion Lunge Test, Ankle stiffness, Achilles tendon thickness, Achilles tendon ultrasound.

1. INTRODUCCIÓN

La flexión dorsal de tobillo, se valora en diferentes campos como la medicina, terapia física y especialmente en el deporte. Es un movimiento necesario para la realización de actividades diarias (caminar, subir escaleras) y para la práctica deportiva, como la carrera o modalidades que requieran saltos, sentadillas... (Languarika-Rocafort, Emparanza, Aramendi, Castellano, & Calleja-González, 2017). Su valor es tan esencial en la biomecánica articular, que puede cambiar la locomoción del miembro inferior y con ello inducir al desarrollo de ciertos daños en los tejidos. Especialmente, se considera que una dorsi-flexión reducida es uno de los principales factores de riesgo de lesiones, durante la práctica deportiva (Wahlstedt & Rasmussen-Barr, 2015). Se ha determinado que tiene especial influencia en la carrera. Una disminución de su rango de movimiento, está asociado a una menor flexión de rodilla y con ello, a un aumento de las fuerzas de reacción del suelo durante la fase de apoyo. Dichas lesiones pueden darse en tobillo o influir en la totalidad de la mecánica de la extremidad inferior (Fong, Blackburn, Norcross, McGrath, & Padua, 2011). Conociendo las consecuencias del valor de la flexión dorsal, es necesario elegir el método más idóneo para determinarlo. Aunque existan en la literatura diferentes mediciones el *Test de Lunge*, ha resultado ser uno de los más utilizados para encontrar su rango. Ha demostrado mejor fiabilidad que los test en descarga y es el más representativo de la función de la extremidad inferior en las actividades en carga (Languarika-Rocafort *et al.*, 2017). Por otro lado, relacionando la dorsi-flexión con la musculatura posterior, se conoce que la retracción

del complejo gastrosóleo (especialmente, gastrocnemio) se asocia a un aumento de la rigidez de dicho rango de movimiento articular. Esto es consecuencia de la función del tendón de Aquiles, que produce una flexión plantar del retropié y una dorsiflexión del antepié (Nakale, Strydom, Saragas, & Ferrao, 2018). Sus rasgos anatómicos y su adaptación tisular progresiva a la carga, puede tener relación con la movilidad del tobillo (Bohm, Mersmann, & Arampatzis, 2015). Por lo tanto, el objetivo que se persigue en esta investigación es averiguar si existe relación del grosor del tendón de Aquiles con el movimiento dorsi-flexor de la articulación; mediante una valoración con el Test de Lunge y una medición ecográfica que analice el área de sección transversal de dicha estructura tendinosa.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio observacional, sobre 20 pies de 10 atletas voluntarios. La valoración transcurrió en la *Clínica Universitaria de Podología* de la Universidad Complutense de Madrid (UCM); en el periodo comprendido entre el 2 y el 12 de marzo del 2018. Los criterios de inclusión establecidos fueron los siguientes: atletas que corroboraron su actividad física gracias al cuestionario IPAQ (cuestionario internacional de actividad física); sujetos que tenían una edad entre los 18 – 30 años; práctica deportiva mínima de dos días a la semana, con una consecución de entrenamiento durante un mínimo de cuatro semanas y que estuvieron de acuerdo con participar en el estudio mediante el consentimiento informado. Los criterios de exclusión determinados fueron: que el individuo tuviera antecedentes personales de patologías que alteren la rigidez de los tejidos; que haya sido sometido cirugías previas en tobillo; sujetos con lesiones de tendón de Aquiles y que han presentado sintomatología dolorosa en la realización del Test de Lunge o no han sido capaces de reproducirlo. Todas las actividades de investigación fueron coherentes en base a los *Principios de la Declaración de Helsinki* y con las guías de buena práctica. El comité ético del *Hospital Clínico San Carlos de Madrid*, aprobó este estudio.

Las pruebas a realizar fueron las siguientes. En el *Test de Lunge* el paciente, teniendo como referencia dos líneas (una en el suelo y otra en la pared, marcadas con cinta de medición milimetrada), trató de tocar la pared mediante una flexión de tobillo, rodilla y cadera sin levantar el talón del suelo. El propósito fue intentar ale-

jar el pie contralateral lo máximo posible, mientras se flexionaba el miembro inferior a estudiar para conseguir máximo rango de movimiento de tobillo. Se realizó un ensayo de prueba, seguido de 3 prácticas decisivas. La medición en grados, fue dada gracias a una aplicación móvil validada “*iHandy Level App*”; colocando dicho inclinómetro a 15 cm de la tuberosidad tibial. El clínico G.M.G se encargó de recoger los datos y mantener la posición adecuada durante el transcurso de la prueba (Langarika-Rocafort *et al.*, 2017; Vohralik, Bowen, Burns, Hiller, & Nightingale, 2015). Las mediciones ecográficas fueron realizadas del siguiente modo, gracias a la investigadora V.M.D; sin conocer los resultados del *Test de Lunge*. Se valoró el grosor en tres zonas, mediante un estudio dinámico: la unión músculo-tendinosa, el punto más proximal de la inserción en el calcáneo y el punto medio de las localizaciones anteriores (corte longitudinal). Para ello se colocó al paciente en posición de decúbito prono y con los tobillos fuera de la camilla. Cada tobillo se flexionó ligeramente hasta los 90° para aumentar el contacto entre el transductor y el tendón. A partir del punto medio obtenido, se cambió la posición del transductor a transversal y se añadieron marcadores para valorar en centímetros, el grosor del elemento de estudio. Tras obtener los resultados, es importante tener en cuenta que la principal medida no son los datos reflejados en pantalla, si no el área de sección transversal del tendón. Dicho valor se obtiene gracias a la fórmula matemática “ $ELIPSE = a \cdot b \cdot \pi$ ”. Un tercer investigador cegado sobre los resultados fue el que realizó el análisis estadístico (Koivunen-Niemelä & Parkkola, 1995; Leung & Griffith, 2008).

El análisis estadístico fue realizado usando el paquete estadístico SPSS para Windows, versión 19.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). La asunción de normalidad de las variables continuas fue verificada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables continuas con una distribución normal (Test de Kolmogorov-Smirnov con $P > 0.05$) fueron descritas por su media y desviación estándar. Por otro lado, las variables categóricas fueron expresadas en forma de frecuencia y porcentaje. Las diferencias estadísticas entre factores fueron evaluadas usando el test de correlación de Pearson. La fortaleza de la diferencia en el tamaño del efecto fue calculada mediante el coeficiente de correlación (r), donde valores entre 0.10 y 0.30 se consideraron un efecto pequeño; entre 0.30 y 0.50 un efecto medio y mayor a 0.50 un efecto grande. Los coeficientes ne-

gativos fueron considerados relación inversa. $P < 0.05$ fue aceptado como estadísticamente significativo con un intervalo de confianza del 95%.

3. RESULTADOS

Un total de 10 voluntarios ($N=20$ pies) fueron incluidos en el análisis, teniendo en cuenta previamente los criterios de inclusión y exclusión. Seis fueron hombres (60%) y 4 fueron mujeres (40%). La edad media de los participantes fue de 22.60 ± 4.08 años, presentando un índice de masa corporal medio de $22.68 \pm 2.09 \text{ Kg/m}^2$. La muestra presentó un grosor medio del tendón de Aquiles de $0.45 \pm 0.06 \text{ cm}^2$; mientras que la media del test de Lunge fue $40,06 \pm 4,54$ grados. Aquellos pacientes con menor rango de flexión dorsal de tobillo presentaron un grosor mayor del tendón de Aquiles (Ver Figura 1) mostrando un tamaño del efecto grande ($P=0.008$; $r=-0.576$).

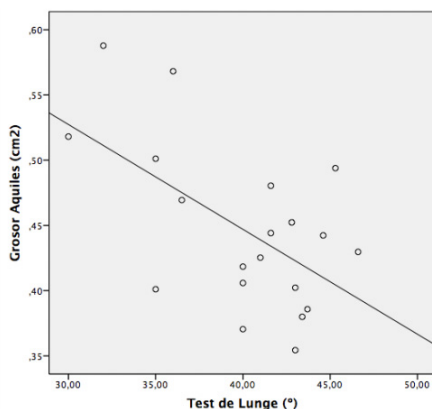


Figura 1. Diagrama de dispersión de la Correlación del Momento-Producto de Pearson del grosor del tendón de Aquiles versus el test de Lunge.

4. DISCUSIÓN

El principal objetivo de nuestra investigación fue valorar la existencia de relación entre el grosor del tendón de Aquiles y el movimiento dorsiflexor de la articulación del tobillo en individuos deportistas, en concreto, atletas. Los resultados del presente estudio piloto indican que existe concomitancia entre estas dos variables de tal forma que, a mayor área de tendón de Aquiles, se produce un menor rango de movimiento articular. Dicho resultado puede tener relación con la adaptación del tejido a la carga a la que es sometido durante el entrenamiento.

El tendón tiene como función la transmisión de fuerza ejercida por el músculo al esqueleto, por lo tanto, es un componente

crucial para la locomoción humana. Que el tejido presente una adecuada elasticidad le permite facilitar el potencial de la fuerza muscular; gracias al almacenamiento y liberación de energía. Esto indica que las propiedades del tejido tendinoso pueden afectar a las actividades diarias y práctica deportiva. Sin embargo, teniendo en cuenta nuestros resultados, ¿De qué forma se puede relacionar dicha adaptación con el funcionamiento articular? El tendón sufre cambios en sus propiedades mecánicas, materiales y morfológicas. Dichas modificaciones se traducen en un aumento de rigidez del tejido, el cual ayuda a mantener los rasgos fisiológicos de tensión durante la locomoción. Esta disminución de elasticidad se puede relacionar con un aumento del área de sección transversal; que es lo que coincide con nuestro estudio actual. Por lo tanto, una elevada contracción muscular y en un tiempo prolongado, resulta beneficioso para proteger la articulación (Bohm *et al.*, 2015; Siu, Chan, Lam, Lee & Ying, 2016). Esto contradice estudios anteriores que reflejan el aspecto negativo de la disminución del rango de flexión dorsal; puesto que en este caso se podría interpretar como beneficioso. Por lo que se recomendaría realizar futuras investigaciones con un aumento la muestra para valorar la verdadera relación existente entre el área del tendón de Aquiles y la movilidad articular; y la interpretación de los resultados.

El actual trabajo presenta algunas limitaciones que deben ser consideradas. Primero, el tamaño muestral es pequeño (10 individuos, N = 20 pies). Sin embargo, dada la naturaleza de esta investigación y los hallazgos significativos, la cantidad fue adecuada para el propósito. Segundo, los datos fueron recolectados en único centro. Por lo tanto, debe tenerse en cuenta que, al ser un estudio piloto, la validez es exclusivamente interna y no es aplicable a la población atleta general. Además, la correlación entre las variables sólo implica asociación, no causalidad.

5. CONCLUSIONES

Este estudio ha presentado datos que confirman nuestra hipótesis inicial. Ha sido reflejada una *relación inversamente proporcional* entre el grosor del tendón de Aquiles, con la movilidad de flexión dorsal de tobillo. Sin embargo, son necesarias futuras investigaciones para establecer la relación causal entre ambas; ya que existen

diferentes afirmaciones respecto a si el rango de dorsi-flexión lleva al desarrollo de patología o puede ser beneficioso.

BIBLIOGRAFÍA

- Bohm, S., Mersmann, F. & Arampatzis, A. 2015. Human tendon adaptation in response to mechanical loading: a systematic review and meta-analysis of exercise intervention studies on healthy adults. *Sports Medicine - Open*. 1(1): 7. doi: 10.1186/s40798-015-0009-9
- Fong, C.-M., Blackburn, J. T., Norcross, M. E., McGrath, M. & Padua, D. A. 2011. Ankle-Dorsiflexion Range of Motion and Landing Biomechanics. *Journal of Athletic Training*. 46(1): 5–10. doi: 10.4085/1062-6050-46.1.5
- Koivunen-Niemelä, T. & Parkkola, K. 1995. Anatomy of the Achilles tendon (tendo calcaneus) with respect to tendon thickness measurements. *Surgical and Radiologic Anatomy*. 17(3): 263–268. doi: 10.1007/BF01795061
- Langarika-Rocafort, A., Emparanza, J. I., Aramendi, J. F., Castellano, J. & Calleja-González, J. 2017. Intra-rater reliability and agreement of various methods of measurement to assess dorsiflexion in the Weight Bearing Dorsiflexion Lunge Test (WBLT) among female athletes. *Physical Therapy in Sport*. 23: 37–44. doi: 10.1016/j.ptsp.2016.06.010
- Leung, J. L. Y. & Griffith, J. F. 2008. Sonography of chronic Achilles tendinopathy: A case-control study. *Journal of Clinical Ultrasound*. 36(1): 27–32. doi: 10.1002/jcu.20388
- Nakale, N. T., Strydom, A., Saragas, N. P. & Ferrao, P. N. F. 2018. Association Between Plantar Fasciitis and Isolated Gastrocnemius Tightness. *Foot & Ankle International*. 39(3):271–277. doi: 10.1177/1071100717744175
- Siu, W., Chan, C., Lam, C., Lee, C. & Ying, M. 2016. Sonographic Evaluation of the Effect of Long-Term Exercise on Achilles Tendon Stiffness using Shear Wave Elastography. *Journal of Science and Medicine in Sport*. 19(11): 883–887. doi: 10.1016/j.jsams.2016.02.013
- Vohralik, S. L., Bowen, A. R., Burns, J., Hiller, C. E. & Nightingale, E. J. 2015. Reliability and Validity of a Smartphone App to Measure Joint Range. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*. 94(4): 325–330. doi: 10.1097/PHM.0000000000000221
- Wahlstedt, C. & Rasmussen-Barr, E. 2015. Anterior cruciate ligament injury and ankle dorsiflexion. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. 23(11): 3202–3207. doi: 10.1007/s00167-014-3123-1

Mordida abierta esquelética: métodos no quirúrgicos comparados con la cirugía ortognática

Skeletal open bite: non-surgical treatment methods compared with orthognatic surgery

CLAUDIA MOLINA MARTOS Y BEATRIZ NADAL GUERRERO

Universidad Complutense de Madrid – Facultad de Odontología
cmolinamartos@gmail.com

Tutores: José María Alamán Fernández y
Paloma San Román Calvar

Resumen: Introducción: En esta revisión bibliográfica se comparan distintos métodos no quirúrgicos para el tratamiento de la mordida abierta de causa esquelética en adultos. Se describen diversas técnicas que pueden combinarse entre sí tales como MEAW, MIA, TADs (Temporary Anchorage Devices), Invisalign y la colocación de miniplacas ancladas en el cigomático para la intrusión de molares y disminución de la altura facial inferior; las cuales son estudiadas cuando los pacientes no quieren someterse a una cirugía mayor como sería la cirugía ortognática. Conclusiones: El tratamiento de intrusión con miniplacas ancladas a la zona posteromaxilar y extracción de premolares consiguen cambios muy favorables, que a largo plazo se considera estable. La intrusión con dispositivos de anclaje temporal o microtornillos de los dientes posterosuperiores puede ofrecer resultados satisfactorios. El sistema de Invisalign es una modalidad terapéutica muy efectiva cuando se decide no llevar a cabo extracciones en mordidas abiertas moderadas. Las cirugías ortognáticas bimaxilares parecen ser procedimientos relativamente estables.

Palabras clave: “skeletal open bite”, “orthodontic”, “orthognatic surgery”, “non-surgical treatment”.

Abstract: Introduction: in this bibliographic review we make a comparison between non.surgical methods for the treatment for a skeletal open bite in adults. We show a variety of techniques which can be combined, such as MEAW, MIA, TADs (Temporary anchorage devices),

Invisalign and the use of zygomatic miniplates for posterior intrusion. They are studied when orthognatic surgery is not preffered by patients. Conclusions: Treatment with zygomatic miniplates on the maxillary posterior segment, producing a molar intrusion and with premolar extraction produces positive changes and with long-term stability. Intrusion of maxillary molars with TADs or miniscrews offer a satisfactory outcome. Invisalign is an effective treatment when a non-extraction treatment is decided in a moderate open-bite. A bimaxillary orthognathic surgery is a long-term stable treatment.

Key words: “skeletal open bite”, “orthodontic”, “orthognathic surgery”, “non-surgical treatment”.

1. INTRODUCCIÓN

La mordida abierta se describe como una falta de acoplamiento entre los incisivos superiores e inferiores en la dimensión vertical. Puede ser de causa dentoalveolar o esquelética y desarrollarse con un patrón esquelético subyacente de clase I, II o III (García Fernández, 2013). Se caracteriza por un plano mandibular inclinado, un ángulo goniaco abierto y un aumento del tercio inferior facial. Generalmente los pacientes tienen un patrón esquelético hiperdivergente y un exceso de crecimiento vertical del complejo dentoalveolar en el maxilar, la mandíbula o ambos (Marzouk & Kassem, 2016). Presenta una etiología variada: comportamiento (hábitos de succión del dedo/pulgar...), obstrucción nasofaríngea, un patrón de crecimiento desfavorable (crecimiento esquelético vertical con posteriorrotación mandibular), un trastorno eruptivo dentoalveolar y macroglosia (García Fernández, 2013).

Se considera complicada de tratar, sobretodo en adultos, porque el tratamiento ortopédico ya no es una opción (Marzouk & Kassem, 2014) y tiende a la recidiva al tener problemas funcionales de empuje lingual (Marzouk & Kassem, 2016), por lo que hay que valorar la capacidad para tratar y mantener cerrada o estable la mordida a largo plazo, existiendo diferentes protocolos para su corrección. Un meta- análisis sobre la estabilidad a largo plazo del tratamiento de las mordidas abiertas anteriores demostraron que tanto la corrección quirúrgica como la no quirúrgica fueron eficaces en más del 75% de los casos. Esto indica que la opción sin cirugía tiene una estabilidad a largo plazo muy similar; además de ser muy efectiva, mucho menos invasiva y más económica para el paciente (Moshiri, Araújo, McCray, Thiesen & Kim, 2017).

Tratamiento con ortodoncia convencional

Una opción para el manejo de la mordida abierta sería realizar la combinación de dos técnicas: la técnica MEAW, que consiste en el uso de arcos multiloops con curva de Spee invertida e intrusora posterior y elásticos cortos laterales, y la técnica MIA, que sería el anclaje con microtornillos. La técnica MEAW trata de enderezar los dientes posteriores y realizar una extrusión parcial de los dientes anteriores, con el efecto limitado de una intrusión posterior. Se sigue estudiando la efectividad a largo plazo de la técnica MIA para esta maloclusión (Ziquing, Zheng, Xudont & Gang, 2014).

El uso de TADs bilaterales para controlar verticalmente o intruir los molares son recomendados para pacientes con una cara muy larga o una mordida abierta severa. Se ha utilizado para intruir los dientes posterosuperiores y así permitir la anterotación de la mandíbula para cerrar la mordida (Scheffler, Profit & Phillips, 2014).

Dentro del tratamiento con ortodoncia convencional, se podría llevar a cabo una técnica quirúrgica mucho menos invasiva que la ortognática para la intrusión de los molares superiores con miniplacas de anclaje en el hueso cigomático y minitornillos(MIA) para intruir dientes posterosuperiores produciendo una anterorrotación de la mandíbula, una reducción de la altura facial anterior, el cierre de la mordida abierta, más competencia labial y mayor proyección del mentón (Marzouk & Kassem, 2016).

Todos estos tratamientos pueden combinarse con elásticos intermaxilares (para cerrar la mordida abierta), extracciones dentarias y el ajuste oclusal selectivo de dientes. Hay que tener muy en cuenta que la extrusión de los incisivos para cerrar una mordida anterior es muy limitada, ya que tenemos que tener en cuenta el periodonto y la estética del paciente.

Tratamiento con Invisalign®

Invisalign consiste en una serie de alineadores secuenciales transparentes (AST), realizados a medida, con un diseño y fabricación asistidos por tecnología 3D (cad/cam). Estos alineadores ejercen una ligera presión sobre los dientes, llegando a producir el movimiento dentario (Román, Rivero & de La Torre, 2009). Surgió como alternativa estética a la ortodoncia convencional. Al principio solo se recomendaba en casos poco complejos, pero el sistema

ha ido mejorando hasta conseguir abordar casos de maloclusiones complejas. Varias investigaciones han demostrado su manejo eficaz en mordidas abiertas moderadas (Moshiri, Araújo, McCray, Thiesen & Kim, 2017; Schupp, Haunrich & Neumann, 2010). Invisalign requiere un aumento de la retención del alineador sobre los dientes cuando se cierra la mordida abierta (García Fernández, 2013).

Tratamiento quirúrgico

La cirugía ortognática se utiliza para corregir deformidades faciales afectando a la mandíbula, el maxilar y los dientes, en combinación con aparatología ortodóncica en el paciente durante un periodo de tiempo variable. Este tratamiento no debe realizarse hasta el fin del crecimiento esquelético de la cara (García Fernández, 2013). Actualmente el tratamiento ortodóncico quirúrgico puede ser mediante aparatología convencional multibrackets o con alineadores transparentes tipo Invisalign, combinándose con microtornillos para el anclaje durante la cirugía o estabilización postquirúrgica con elásticos. La cirugía puede ser surgery first sin ortodoncia previa, surgery early con sólo unos meses de preparación de ortodoncia antes de la cirugía, o surgery late con una ortodoncia previa más prolongada seguido de una ortodoncia postquirúrgica, que es lo más frecuente.

En algunos casos de clase II esquelética con mordida abierta, cuando el paciente no quiere someterse a una cirugía ortognática (García Fernández, 2013), es posible combinar un tratamiento ortodóncico con la técnica MEAW y realizar una mentoplastia para aumentar la prominencia mandibular. En pacientes de clase III ósea y con mordida abierta también se pueden tratar con una cirugía monomaxilar (LeFort I o cirugía mandibular) o modificando la posición de dos maxilares, obteniendo con esta última técnica bimaxilar resultados estéticos y funcionales muy buenos (Kor, Yang & Hwang, 2014).

Pese a que el LeFort I maxilar es el procedimiento ortognático más estable durante el primer año postquirúrgico, se prefiere para tratar una mordida abierta con una cirugía bimaxilar para mayor estabilidad. La impactación y avance del maxilar superior se realiza para obtener una altura facial inferior correcta y una buena exposición incisal en reposo y sonrisa. La osteotomía de rama

mandibular corrige la posición anteroposterior de la mandíbula, si no anterorrotó a una posición correcta después de haber desplazado el maxilar. Clínicamente, la mejoría en la apariencia facial y la predictibilidad y estabilidad de los resultados han hecho este procedimiento más versátil y efectivo cuando se lleva a cabo con un buen diagnóstico y planificación, una ejecución correcta y con mucha atención al detalle (Vadgaonkar, Gangurde, Deshmukh & Shah, 2014).

2. DISCUSIÓN

Tratamiento con ortodoncia convencional

Algunos estudios han valorado los efectos dentales y esqueléticos de la intrusión posterior con anclaje esquelético. Deguchi et al compararon el resultado del tratamiento ortodóncico en mordidas abiertas con extracción de premolares utilizando tratamiento convencional o con anclaje mediante la colocación de un implante, grupo en el cual observaron una reducción de la convexidad facial y un aumento de la competencia labial. Al final del tratamiento, al intruírse los dientes posteriosuperiores, el mentón se desplazaba hacia delante y hacia arriba (antihorario), con una reducción en la convexidad del paciente (Marzouk & Kassem, 2016).

La técnica MEAW puede ayudar a cerrar la mordida pero no ayuda a reducir la altura del tercio facial inferior (Marzouk & Kassem, 2014). Pero, Kim *et al* a la hora de evaluar las recidivas por este tratamiento, no encontraron resultados estadísticamente significativos. Es útil para la retracción y extrusión de los anteriores anteriores, sin embargo, no lo es para la intrusión de los dientes posteriores. Además, para aplicar esta técnica hay que tener mucha experiencia y colaboración por parte del paciente en el uso de elásticos. Si además combinamos esta técnica con la MIA, favorecería una rotación horaria del plano oclusal.

En cuanto al uso de los TADs Sugawara et al encontraron un 27-30% de recidiva de los molares superiores en un año. Baek et al una recidiva de un 23% de la intrusión de los molares y una recidiva de la sobremordida de un 17% a los 3 años. Deguchi et al reportaron un 22% de recidiva de los molares superiores y de la mordida abierta de un 13% a los 2 años. Nunca se ha conseguido una estabilidad completa al año de finalizar el tratamiento. Además, realizan-

do comparaciones clínicas con la cirugía ortognática, los pacientes quirúrgicos no tenían cambios en la relación entre el primer molar superior y el planopalatino mientras que los pacientes que habían sufrido intrusión habían tenido una disminución significativa.

Gracias a los aparatos de anclaje temporal, como los minitornillos y miniplacas, la intrusión de los molares en su soporte óseo, el producir una anterorrotación mandibular y cierre de mordida es posible en un gran número de casos. La intervención quirúrgica para su colocación es mínima y los resultados obtenidos son similares a los conseguidos con cirugía ortognática. Por ello, la intrusión de molares con anclaje esquelético es ahora aceptado como tratamiento para las mordidas abiertas anteriores de causa esquelética (Marzouk & Kassem, 2016).

Tratamiento con Invisalign

La ventaja del uso de Invisalign para el tratamiento de este tipo de maloclusiones es que cubre todas las caras oclusales, impidiendo que tengan lugar movimientos extrusivos o intrusivos no deseados (Schupp, Haunrich & Neumann, 2010). La corrección de la mordida abierta se realiza con intrusión a nivel posterior o extrusión anterior o una combinación de ambos, además de expansión de las arcadas y cambios de inclinación de incisivos. Todo ello por medio de la conformación del alineador plástico y la retención que ofrecen los attaches de composite sobre algunos dientes. En una mordida abierta en un adulto, se pueden usar elásticos verticales para mejorar los resultados con Invisalign (Moshiri, Araújo, McCray, Thiesen & Kim, 2017; Park & Kim, 2009).

Tratamiento quirúrgico

Es el tratamiento ideal de una mordida abierta esquelética severa, demostrando una estabilidad a lo largo del tiempo en 75-85% de los pacientes. A pesar de los buenos resultados, este tipo de cirugías conllevan complicaciones, dolor postoperatorio, edema, incomodidad, un alto coste, una rehabilitación post-cirugía, alteraciones de la sensibilidad... por lo que no es la opción preferida de los pacientes (Marzouk & Kassem, 2014). También tienen lugar recidivas, en el caso de cirugías donde se llevan a cabo rotaciones antihorarias de la mandíbula ya que los músculos elongados tienden a volver a su longitud original (Kor, Yang & Hwang, 2014).

3. CONCLUSIÓN

El tratamiento con intrusión de una mordida abierta esquelética en adultos con miniplacas ancladas a la zona posteromaxilar y con extracción de premolares consiguen cambios muy favorables en los tejidos blandos de la cara, que a largo plazo se considera estable. Las recidivas tienen lugar sobre todo en el primer año de retención (Marzouk & Kassem, 2016).

La intrusión con dispositivos de anclaje temporal o microtornillos de los dientes posterosuperiores puede ofrecer resultados satisfactorios en una mordida abierta moderada de 5 a 6 mm, pero algunos cambios en la posición de la mandíbula se pueden perder cuando reerupcionan esos dientes. Parte de la corrección de la mordida abierta es una ligera elongación de los incisivos, pero como mucho 2 mm (Scheffler, Profit & Phillips, 2014).

El sistema de Invisalign es una modalidad terapéutica muy efectiva cuando se decide no llevar a cabo extracciones en mordidas abiertas moderadas. El cierre de mordida puede conseguirse gracias a una combinación de intrusión de los molares, extrusión de los incisivos, expansión de las arcadas y cambios de inclinación de los incisivos (Moshiri, Araújo, McCray, Thiesen & Kim, 2017; Park & Kim, 2009).

La cirugía ortognática produce una mayor disminución de la altura facial anterior (Scheffler, Profit & Phillips, 2014). Los procedimientos bimaxilares con rotaciones horarias o antihorarias del plano mandibular parecen ser procedimientos relativamente estables para corregir una mordida abierta anterior (Kor, Yang & Hwang, 2014). Actualmente la cirugía puede realizarse combinada con aparatología multibrackets o con Invisalign junto a microtornillos de anclaje.

BIBLIOGRAFÍA

- García Fernández, M.A. 2013. Estabilidad del tratamiento de la maloclusión de mordida abierta anterior. *Rev Esp Orthod*, 43:13-21.
- Kor, H.S., Yang, H.J., Hwang, S.J.. 2014. Relapse of skeletal class III with anterior open bite after bimaxillary orthognathic surgery depending on maxillary posterior impaction and mandibular counterclockwise rotation. *Journal of Craneo-Maxillo-Facial Surgery* 42:e230-e238

- Marzouk, E.S., Kassem, H.E. July 2016. Evaluation of long-term stability of skeletal anterior open bite correction in adults treated with maxillary posterior segment intrusion using zygomatic miniplates. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 150 (1): 78-88.
- Marzouk, E.S., Kassem, H.E. 2018. Long-term stability of soft tissue changes in anterior open bite adults treated with zygomatic miniplate-anchored maxillary posterior intrusion. *Angle Orthodontist*, 88(2): 163-170.
- Moshiri, S, Araújo, E.A., McCray, J.F., Thiesen, G, Kim, K.B. 2017. *Cephalometric evaluation of adult anterior open bite non-extraction treatment with Invisalign*. Dental Press J Orthod. 22(5):30-8.
- Román, M, Rivero, J.C., de la Torre, M. 2009. Extrusión con el sistema invisalign. *Ortodoncia Clínica*; 12(3):80-84.
- Park J.H., Kim, T.W. 2009. *Open-Bite Treatment utilizing clear removable appliances with intermaxillary and intramaxillary elastics*. World Journal of Orthodontics. Vol 10, N2.
- Scheffler, N.R., Profit, W.R., Phillips, C. Nov 2014. Outcomes and Stability in patients with anterior open bite and long anterior face height treated with temporary anchorage devices and a maxillary intrusion splint. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 146(5): 594-602.
- Schupp, W., Haubrich, J., Neumann, I. 2010. Treatment of Anterior Open Bite with the Invisalign System. *Journal of Clinical Orthodontics*. XLIV (8): 501-507.
- Vadgaonkar, V., Gangurde, P., Deshmukh, V., Shah, A. 2014. Orthodontic and surgical perspectives in management of a severe skeletal open bite. *Journal of Clinical Orthodontics*. XLIV (8):1-6.
- Ziquing, X., Zheng, H., Xudong, W., Gang, S. Nov 2014. Case report: Severe anterior open bite with mandibular retrusion treated with multiloop edgewise archwires and microimplant anchorage complemented by genioplasty. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 146 (5): 655-664.

The role of sleep in nursing professionals

SAMIR MOHAMED ABDDELKADER Y

VÍCTOR MOREDA DE FIGUEROA

Faculty of Nursing, Physiotherapy and Podiatry, UCM

samirmoh@ucm.es

Resumen: La falta de sueño en los profesionales de la enfermería se ha convertido en un problema muy común que afecta a su salud física y mental, así como a la calidad de la atención hospitalaria. Esto se conoce como Desorden de Sueño por Turnos de Trabajo (SWSD, del inglés *Shift Work Sleep Disorder*).

En la siguiente revisión se analizan los efectos y consecuencias del sueño en los profesionales de enfermería. En los estudios que se incluyen se refleja la correlación existente entre los trastornos del sueño y los turnos de trabajo, al igual que diversos efectos derivados entre los cuales encontramos la falta de eficacia en el desempeño de sus funciones, el burnout y alteraciones a nivel del sistema inmunitario, metabólico y cognitivo.

Para ello, tenemos que partir de una comprensión completa del proceso del sueño que, en muchas ocasiones, no se presenta en los diversos artículos revisados. Derivada de dicha comprensión, basada en una visión holística del sueño, resulta fundamental establecer unas pautas que ayuden tanto a la prevención y diagnóstico de dicho desorden mediante diferentes cuestionarios entre los que destaca el *Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI)*, así como al tratamiento de los desórdenes del mismo.

Palabras clave: Trastornos del Sueño, Higiene del Sueño, Enfermería, Turnos de Trabajo.

Abstract: Lack of sleep in nursing professionals has become a very common problem affecting their physical and mental health, as well as the quality of hospital care. This is known as Shift Work Sleep Disorder (SWSD).

The following review analyses the effects and consequences of sleep in nursing professionals. The studies included reflect the correlation between sleep disorders and work shifts, as well as various effects derived from the lack of efficacy in the performance of their functions, burnout and immune, metabolic and cognitive disturbances.

For this, we have to start from a complete comprehension of the sleep process that, in many cases, was not present in the various articles reviewed. Emanating from this comprehension, based on a holistic view of sleep, it is essential to establish guidelines that help both the prevention and diagnosis of this disorder through different questionnaires, including

the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI), as well as the treatment sleep disorders.

Key words: Sleep Disorders, Sleep Hygiene, Nursing, Work Shifts

1. INTRODUCTION

Sleep disorders are present in a large part of the population, being a very frequent problem, with an approximate prevalence of 15% (Vargas & Luis García, 2012).

During the review it has been identified a lack of clarity in the concept of sleep quality because studies provide different versions that describe individually each implication of it.

The fact of achieving a clear focus on the quality of sleep would provide a framework of reference for both, patients and professionals, making it possible to establish an educational program, health prevention and promotion objectives, and consequently develop techniques to achieve this aim.

Regarding the general sleep process, different phases are distinguished: slow or non-REM sleep phase and rapid sleep or REM phase. Non-REM sleep is divided into four phases: Phase I, light sleep; Phase II, the nervous system blocks the access pathways of sensory information isolating the person from the environment; Phase III, deep sleep where Delta waves appear; and, Phase IV, of deepest sleep in which we are not sensitive to the outside world and it is difficult to awaken (Mayor Silva, 2016).

Once the physiology of sleep is described, it is necessary to highlight the importance of adequate sleep hygiene for a proper development of work activity on nursing, the professional collective is exposed to factor due to both work stress and night shifts of work.

This is the reason why the review focuses on the relevance of the complications arising from the lack of sleep, which are included in the term Shift Work Sleep Disorder (SWSD), as well as the prevention of this through various techniques. All this is based on an exhaustive bibliographical review (Åkerstedt & Wright, 2009).

2. MATERIALS AND METHODS

Several databases have been used to carry out the exhaustive bibliographic search such as Medline PubMed, Embase, ENFIS-PO, The Cochrane Library, CINAHL. Using as specific descrip-

tors: 'sleep disorder', 'sleep hygiene', 'nursing', 'work shifts'. Bibliographies have been obtained focusing on a temporal framework from 2008 to 2017, in different languages as English, French and Spanish.

3. RESULTS

In the specific case of hospital nursing, we have found several studies focusing on this area. One of the most relevant is the one performed by Alison Trinkoff, which highlights the results of researchers indicating how, hospitalized patients cared by nurses who are forced to work during prolonged times, have a high probability of dying from pneumonia and heart attack (Vargas Mendoza & Luis García, 2012). This is a wake-up call for the current nursing situation, since a good nursing care requires a correct rest of the professional that includes sleep of adequate quality and duration. The study used information about the staff of 71 acute care hospitals in Illinois and North Carolina, with the participation of 633 different hospitals

Other studies related to sleep disorders in nursing resulted in the existence of a direct correlation between sleep disorders and shifts in work (Shields, 2008). In that way, those professionals belonging to the morning shift presented relatively good sleep, with some insomnia problems, while night shift staff reflected higher rates of hypersomnia secondary to circadian rhythm of sleep disorders.

Some major consequences are the alteration of the efficacy of nurses when performing their function, in the development of Burnout syndrome and sleep disorders associated with shifts in work (Díaz-Campo *et al.*, 2008).

In the study of Shields (2008) with nurses from Canada of different services within the hospital, was evidenced that they administered erroneous medication to patients frequently due to workload, dissatisfaction, night work shifts, among other factors (Shields, 2008).

We also find in the research done by Ríos Risquez *et al.* (2008), a comparison and a evidence of higher level of burnout present in intensive care and emergencies services, obtaining as results moderately high levels, being these services where there is evidence of higher levels of burnout. In addition, professionals from intensive care units are the most vulnerable to suffer high levels of emotional

exhaustion and the male gender is the most prone to attitudes of depersonalization. On the other hand, from the interpretation of data obtained during the review about the consequences of a forced vigil that we can find in the nursing night shift we have reached a series of ideas that affect professionals (Mazy, 2016; Books *et al.*, 2017).

First, the lack of sleep affects the metabolism in such a way that if there is a habitual alteration of the circadian cycle, as is the case of health professionals with shifts of work variants, the body is not able to maintain the correct metabolic functions, resulting in cardiac, respiratory and digestive disorders, as it is reflected in the different studies (Luyster *et al.*, 2012).

From the immunological point of view, the prolongation of the vigil beyond the normal levels has been seen that causes a reduction in the activity of the lymphocytes and of the Natural Killer Cells (NK) causing a deficiency in our immune system that limits the ability to respond to infections. This is a key point in nursing because of its exposure to different pathogens. In addition, it has been observed that the level of immune cells rises above normal levels producing hypersensitization or an aggressive rejection of microorganisms (Besedovsky, 2012).

About the effect on the consolidation of the memory we must consider that during the NON REM phase the organization of the information that we have obtained throughout the day is produced, storing the relevant and discarding what the brain considers unnecessary. So, if there is an alteration in that phase, the processes of assimilation of information are delayed and interrupted (Chambers, 2017; Riemann, 2018).

4. DISCUSSION

Once they have been identified all the consequences for the nursing professional a lack of sleep, as shown in Figure 1, we have observed that despite there are many studies that analyze these factors, a sleep hygiene program has not been developed to help professionals.

In the development of the guidelines to prevent complications arising from the lack of sleep, it is essential, as in any pathology, to carry out an adequate preliminary study, as well as special protocols for an early detection. For this, we have several questionnaires and

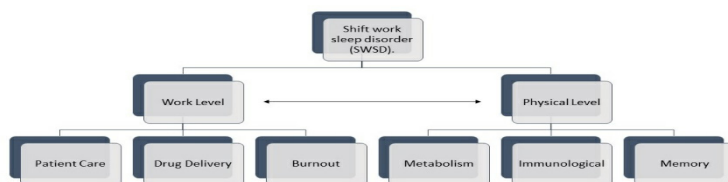


Figure 1. Lack of sleep's consequences in nursing.

among them, the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) is the most relevant. This questionnaire consists of 19 individual items, which are evaluated within one-month time frame and which group seven scoring components: subjective sleep quality, sleep latency, sleep duration, habitual sleep efficiency, sleep disturbances, use of sleeping medications and daytime dysfunction (Buysse *et al.*, 2008). The sum of these 7 components establishes a global score in which a higher score than 5 is indicative of a problem respecting to the quality of sleep, being necessary going to a health professional to try to solve it.

Subsequently, a counseling program is necessary to try to help these professionals in this aspect and to extrapolate the term “sleep hygiene” to the field of nursing. To this aim, the recommendations that we postulate having previously analyzed the situation of a professional of nursing after his shift of work are: keep the bedroom dark at a comfortable temperature; try to do some aerobic exercise 2 or 3 times a week; develop a relaxation routine before sleeping as a warm bath or some relaxing activity; avoid having to expose themselves to bright lights in the middle of the sleep to prevent alteration of the sleep cycle; try to concentrate on resting and postponing stressful work thoughts to improve the quality of sleep; and, avoid consuming alcoholic beverages and stimulants (Riemann, 2018).

5. CONCLUSIONS

From the aforementioned studies it can be concluded that the lack of sleep in nursing professionals is a disorder that affects their physical and mental health, as well as the quality of hospitals care,

known as *Shift Work Sleep Disorder (SWSD)*.

Sleep disorders caused in the health personnel range from death, pneumonia, heart attack, insomnia or hypersomnia, depending on work shifts, elevated levels of emotional exhaustion, metabolic, immune and memory disorders to errors in drug administration that can affect patients' safety. To prevent these problems is necessary a previous suitable study as well as an early detection, using instruments such as the *Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI)*. Finally, a program of intervention of "sleep hygiene" is necessary in the field of nursing either from the prevention through the training in the students or a directly intervention in the professionals.

BIBLIOGRAPHY

- Åkerstedt, T. & Wright, K. 2009. Sleep Loss and Fatigue in Shift Work and Shift Work Disorder. *Sleep Medicine Clinics*. 4(2): 257-271. doi: 10.1016/j.jsmc.2009.03.001
- Besedovsky, L., Lange, T. & Born, J. 2012. Sleep and immune function. *Plugers Archiv*, 2. 1-5. doi: 10.1007/s00424-011-1044-0
- Books, C., Coody, L., Kauffman, R. & Abraham, S. 2017. Night Shift Work and Its Health Effects on Nurses. *The Health Care Manager*. 36(4):347-353. doi: 10.1097/hcm.0000000000000177
- Buyssse, D.J., Hall, M. L., Strollo, P.J., Kamarck, T.W., Owens, J., Lee, L., Matthews, K. A. 2008. Relationships Between the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI), Epworth Sleepiness Scale (ESS), and Clinical/Polysomnographic Measures in a Community Sample. *Journal of Clinical Sleep Medicine*. 4(6): 563-571.
- Chambers, A. 2017. The role of sleep in cognitive processing: focusing on memory consolidation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*. 8(3): 3-8. doi: 10.1002/wcs.1433
- Díaz-Campo García-Carpintero, Y., Díaz-Campo García-Carpintero, C., Puerma Castillo, C., Viedma Lloreda, M., Aulet Ruiz, A., Lázaro Merino, E. & Fernández Rodríguez, O. 2008. La calidad del sueño en los profesionales sanitarios de dos Áreas de Salud de Castilla-La Mancha. *Revista Clínica de Medicina de Familia*. 2(4): 3-6. doi:10.4321/s1699695x2008000200004
- Luyster, F., Strollo, P., Zee, P. & Walsh, J. 2012. Sleep: A Health Imperative. *Sleep*. 35(6):727-734. doi:10.5665/sleep.1846
- Mayor Silva, L. 2016. *Tema 3.3 Funciones psicológicas más importantes del sueño. Presentation*. Grado Enfermería. UCM.
- Mazy, F. 2016. *La gestion du risque sous fatigue: Étude réalisée dans le secteur des soins infirmiers en milieu hospitalier*. Université De Liège, 1-15. Memoire. Retrieved from <http://hdl.handle.net/2268.2/2212>

- Riemann, D. 2018. Sleep hygiene, insomnia and mental health. *Journal of Sleep Research*. 27(1):3-3. doi: 10.1111/jsr.12661
- Ríos Risquez, M., Godoy Fernández, C., Peñalver Hernández, F., Alonso Tovar, A., López Alcaraz, F. & López Romera, A. et al. 2008. Estudio comparativo del burnout en personal de enfermería de Cuidados Intensivos y Urgencias. *Enfermería Intensiva*. 19(1):2-13. doi: 10.1016/s1130-2399(08)72738-x
- Shields, W. 2008. Correlates of medication error in hospitals. *Health Report*, 19(8): 3-7.
- Vargas Mendoza, J. & Luis García, G. 2012. Trastornos del sueño, insomnio e hipersomnio en enfermeras: el efecto del turno de trabajo. *Revista Electrónica Medicina, Salud y Sociedad*. 2(2): 1-5.

Intervención educativa sobre higiene oral en niños plurideficientes

Educative practices on oral hygiene in children with disabilities

GIORGINA MORA GARCÍA, EVA ÁLVAREZ DE ALMEIDA Y
LEYLA DARWISH MATEOS

Facultad de Odontología. Universidad Complutense de Madrid

Resumen: Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de una intervención educativa sobre higiene oral en niños plurideficientes. Material y método: se seleccionó una muestra total de 25 niños (7-19 años). La variable principal evaluada fue el índice de placa, y como variables secundarias los hábitos en higiene oral.

Resultados: La media del índice de placa se redujo de manera estadísticamente significativa al mes de la intervención ($p=0.002$). Se observó una diferencia significativa en cuanto a la mejora en la cantidad de pasta utilizada en el grupo de los varones ($p=0.034$) y en el grupo de los niños colaboradores ($p=0.043$).

Conclusión: Esta intervención educativa ha sido efectiva en la modificación de hábitos de higiene en niños con discapacidad. Sin embargo, la higiene oral en este colectivo sigue siendo pobre, lo cual puede ser debido a diversos factores como las propias limitaciones de los niños o la corta duración del estudio.

Palabras clave: placa dental; higiene oral; discapacidad; niños

Abstract: Objective: The aim of this study was to assess the effect of an educative intervention on oral hygiene in children with disabilities.

Material and methods: A total of 25 children (7-19 years old) were selected. The main variable was plaque index, and the secondary variables were oral hygiene habits.

Results: The mean plaque index was significant reduced one month after the intervention ($p=0.002$). A significant difference was observed in terms of the improvement in the amount of toothpaste used in the men group ($p=0.034$), and in the cooperative group ($p=0.043$).

Conclusion: This educative intervention has been effective in changing hygiene habits in children with disabilities. However, oral hygiene in this group is still poor, which may be due to various factors such as the children's own limitations or the short duration of the study.

Keywords: dental plaque; oral hygiene; disability; children

1. INTRODUCCIÓN

La pluridiscapacidad es una condición grave de origen neurológico que agrupa diferentes limitaciones de tipo psicomotriz, sensorial, cognitivo y físico. El perfil de este colectivo es muy variado, pero en todos los casos se da una restricción muy importante de las capacidades de percepción, comunicación y autonomía, lo que se traduce en una gran dependencia del niño. Según la ONU, las personas con discapacidades presentan tasas más altas de pobreza y privaciones y la probabilidad de que carezcan de atención médica es dos veces mayor que las personas que no presentan ninguna discapacidad.

Cada vez se toma más consciencia sobre el impacto de la salud oral en la salud general. Debido a las condiciones especiales de las personas con plurideficiencias, su salud oral se ve mermada, por dificultades motrices e intelectuales, que impiden una técnica de higiene oral adecuada, por alteraciones en el desarrollo y crecimiento del territorio dentobucofacial y por la medicación consumida, la cual tiene efectos secundarios, lo que facilita la aparición de patologías en la cavidad oral (Lewis 2009). Por este motivo, estas personas requieren un seguimiento, educación y motivación personalizado.

Este trabajo se trata de un proyecto de innovación docente en el ámbito universitario, donde nos hemos implicado en la instrucción y motivación en la higiene oral de un grupo de

niños plurideficientes. La motivación de este proyecto radica en la voluntad de proporcionar a todos los colectivos las herramientas necesarias para obtener un derecho fundamental como es la salud, y en este caso, la oral. Además, encontramos, por la escasa bibliografía, que éste ha sido un proyecto que no se había realizado anteriormente en nuestro entorno.

La hipótesis planteada en nuestro estudio es que la intervención educativa en higiene oral mejora el índice de placa de niños plurideficientes. Por lo tanto, nuestro objetivo fue evaluar la influencia de un programa sobre educación en higiene oral en niños y jóvenes escolares con discapacidad.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental pre-post, de un mes de duración, donde se llevó a cabo una intervención educativa sobre

higiene oral en un grupo de niños plurideficientes. Se seleccionaron 25 niños del colegio Nuestra Señora de la Esperanza perteneciente a la Asociación de Padres y Amigos de Niños Diferentes (APANID) (Getafe, Madrid).

Los criterios de inclusión fueron: edad menor o igual a 20 años, niños que estaban bajo la supervisión de educadores especiales y con el suficiente nivel cognitivo como para desarrollar una interacción con el personal de referencia. Los criterios de exclusión fueron: niños con enfermedades que conllevaban asociadas una limitación psicomotora incapacitante como parálisis cerebral, espina bífida u otras lesiones.

En la primera visita se recogieron las variables demográficas y las clínicas (índice de placa). Se aplicó también un programa educativo sobre higiene oral, basado en primer lugar, en una presentación grupal en formato diapositiva, sencilla y adaptada a los niños. A continuación, se llevó a cabo una interacción alumno de odontología - niño plurideficiente (1:1), donde se realizaron diferentes juegos, con el objetivo de educar a los niños en hábitos de higiene oral, cantidad de pasta de dientes adecuada, orden de cepillado y tiempo de éste. El índice de placa se tomó como una variable dicotómica tras una tinción con eritrosina (Plaque-Control® Dentaïd, Barcelona, España).

En la segunda visita, se recogieron las mismas variables y se realizó un refuerzo en la higiene oral, valorando la mejoría y la motivación de los niños.

El grupo de examinadores estaba compuesto por alumnos del grado de Odontología de 2º, 3º, 4º y 5º curso, tutorizados y supervisados por 4 doctores de la misma Facultad.

Para analizar la normalidad de la distribución de los datos se usó el test de Shapiro-Wilk. Para el análisis de las variables continuas se utilizó el test t pareado, y la prueba chi cuadrado para los datos categóricos. Para el análisis por el número de cepillados y por el grado de colaboración, se clasificó la muestra en 2 grupos: ≤ 1 vez/día *versus* ≥ 1 vez/día; mal o regular colaborador *versus* buen colaborador. Todos los datos se analizaron con el software SPSS®, Statistics 20 (IBM Corporation, Armonk, Nueva York, EEUU) usando dos colas y un nivel de significación de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Descripción de la muestra (tabla 1)

Tabla 1. Descripción de la muestra.

		N=25(%)
Edad: media (DE*)		13.96 (3.42)
Sexo: n (%)	Hombres	15 (60)
	Mujeres	10 (40)

*DE=Desviación Estándar

La edad media (desviación estándar) de los pacientes fue de 13.96 (3.42), con un rango de edad entre 7 y 19 años. En cuanto a la distribución por sexos, la muestra estaba compuesta por 15 hombres y 10 mujeres.

3.2. Variables clínicas

De la muestra total, no se pudo completar la exploración intraoral en 2 de los niños, debido a su escasa colaboración.

3.2.1. Índice de placa total (IP) (variable principal)

Al inicio del estudio la media (desviación estándar) del índice de placa fue de 51.0 (31.9). Tras la intervención educativa, este índice se redujo a 33.45 (30.02) y se observó que esta reducción era estadísticamente significativa ($p=0.002$) (Tabla 2).

3.2.2. Análisis de las variables por sexo

El índice de placa medido en varones disminuyó de 47.08 (27.85) en la primera visita, a un 30.35 (32.64) en la segunda; y en las mujeres de 57.11 (38.3) a 38.28 (26.51). En este caso, no observamos diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres, ni en la primera, ni en la segunda visita ($p=0.474$ y $p=0.548$, respectivamente)

Tabla 2. Media del IP (desviación estándar) antes y después de la intervención educativa.

Índice de	Pre--test	Post--test	Diferencia	IC	(95%)	p
					Límite inferior	Límite superior
Total (n=23)	51.0 (31.9)	33.45(30.0 2)	17.55	6.95	28.1 5	0.0 02

El 100% (13) de los hombres y sólo el 70% (7) de las mujeres había mejorado a la hora de utilizar la cantidad de pasta necesaria para su cepillado. Esta diferencia era estadísticamente significativa ($p=0.034$). Y el 100% (14) de los hombres y el 90% (9) de las mujeres habían mejorado su habilidad para agarrar el mango del cepillo, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0.277$).

Tan sólo el 53.8% (7) de los hombres y el 40% (4) de las mujeres había mejorado a la hora de llevar a cabo una secuencia de cepillado ordenada, por lo que no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ambos sexos ($p=0.510$). En cuanto al tiempo de cepillado, el 53.8% (7) de los hombres y el 60% (6) de las mujeres había mejorado, sin observar diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p=0.768$).

3.3. Variables de conducta

3.3.1. Análisis por el número de cepillados

En la muestra total, el 4.2%(1) de los niños se cepillaba 1 vez al día, el 20.8% (5) lo hacía 2 veces al día, y el 75% (18) 3 veces al día.

Observamos que los que se cepillaban 2 o 3 veces al día presentaban menor índice de placa que los que lo hacían sólo 1 al día (32.78 (30.0) y 41.37, respectivamente). Aunque no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.782$).

3.3.2. Análisis por el grado de colaboración

En la muestra total, el 8% (2) de los niños no fue nada colaborador, el 16% (4) tuvo un comportamiento regular en su interac-

ción, y el 76% (19) fueron buenos colaboradores.

Se observó una media del índice de placa muy similar entre los grupos (33.61 (35.16) para los niños nada o poco colaboradores y 32.97 (28.38) para los niños colaboradores), por lo que no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p = 964$).

El 60% (3) de los poco colaboradores y el 94.4% (17) de los colaboradores había mejorado a la hora de utilizar la cantidad de pasta necesaria para su cepillado. Esta diferencia era estadísticamente significativa ($p=0.043$). En relación con la mejora en el agarre del cepillo dental, el 83.3% (5) de los poco colaboradores y el 100% (18) de los colaboradores habían mejorado su habilidad, sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0.077$) (tabla 3).

Sólo el 33.3% (2) de los que colaboraban poco y el 52.9% (9) de los colaboradores había mejorado en la secuencia de cepillado ordenada, por lo que no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p=0.408$). En cuanto al tiempo de cepillado, el 33.3% (2) de los poco colaboradores y el 64.7% (11) de los colaboradores había mejorado, sin observar diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p=0.183$) (tabla 3).

Tabla 3: Análisis de distintos hábitos según el grado de colaboración.

PARÁMETROS	NIVEL DE COLABORACIÓN		
	NO/REGULAR n (%)	SI n (%)	p
Ha mejorado en la cantidad de pasta	3(60.0)	17(94.4)	0.043
Ha mejorado cogiendo el cepillo	5(83.3)	18(100)	0.077
Ha mejorado en el orden en el cepillado	2(33.3)	9(52.9)	0.408
Ha mejorado en el tiempo de cepillado	2(33.3)	11(64.7)	0.183

4. DISCUSIÓN

Las capacidades físicas y/o mentales reducidas de los niños con deficiencias y por ende, la consecuente dificultad para llevar a cabo un correcto cepillado dental representa un problema de salud

oral importante en ellos, debido a la acumulación de placa dental. Sin embargo, podemos observar en nuestro estudio una mejoría de los hábitos de higiene (índice de placa, cantidad de pasta, manera de coger el cepillo) en los niños intervenidos educacionalmente, pero es importante tener en cuenta, que en nuestra muestra solamente una niña tenía severos problemas motrices.

Se le entregaron, a los niños cepillos de dientes para crear una mayor motivación, y que sirviese de refuerzo positivo. Este método también ha sido utilizado en la intervención educacional en niños con déficit auditivo de AS Seema Asle y col.² y Lamba³, aunque con la diferencia de que dieron pasta de dientes fluorada, lo que pudo interferir clínicamente.

Dentro de las posibles limitaciones, es importante señalar que el período de tiempo en el que se llevó a cabo esta intervención educativa fue corto, y quizás para unos resultados aún más significativos, en todos los aspectos tratados sobre la higiene oral, se necesiten etapas más prolongadas de aprendizaje, puesto que además son niños con plurideficiencias. Sin embargo, coincidiendo con otros estudios, con las mismas características (niños entre 5 y 17 años; 15, 21 días)^{8, 10} pero con otras discapacidades, los resultados son favorables, dependiendo del tipo de deficiencia que presentan y de las técnicas educativas que aplican.

5. CONCLUSIÓN

Podríamos concluir que la intervención educativa es efectiva en la modificación de hábitos de higiene oral, sin embargo, sigue siendo pobre, pudiendo deberse a la corta duración del estudio, a las limitaciones cognitivas, físicas y de coordinación motora de los niños. Por tanto, es necesaria la existencia de este tipo de intervenciones a largo plazo, con mayor seguimiento y que incluyan también a los cuidadores de los niños plurideficientes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos en primer lugar a la APANID, por la colaboración y la disponibilidad que nos ha permitido realizar este estudio. También cabe mencionar a nuestros compañeros que recogieron los datos que usamos en este estudio. Por último, agradecemos a nuestras tutoras la Dra. Margarita Iniesta y la Dra. Bettina Alonso que nos han enseñado, guiado y orientado en este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- Alse ASS, Anandkrishna L, Chandra P, Ramya M, Kamath PS, Shetty AK. 2015. Educational intervention on the plaque score among hearing impaired children. *JCRI*.2:26-30.
- De Moraes Pini, G., Gil Ritter Förlich, PC., Rigo, L. 2016. Oral health evaluation in special needs individuals. *Einstein*. Oct-Dec 14 (4) 501-507.
- Fernández Carmenate, N., Arias Herrera, S., Muñoz Fernández, L. & Travieso Gutiérrez, Y. 2007. Impacto de un programa de comunicación en salud bucal para niños con retraso mental ligero. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 11(4): 1-4.
- Heller, T., McCubbin, J. 2011. Health promotion interventions: what is working for people with intellectual disabilities? *Intellectual and Developmental Disabilities*. 49(1): 26-36. doi: 10.1352/1934-9556-49.1.26.
- Lamba, R., Rajvanshi, H., Sheikh, Z., Khurana, M., Saha, R. 2015. Oral Hygiene Needs of Special Children and the Effects of Supervised Tooth Brushing. *International Journal of Scientific Study*. 3(5): 3-5. doi: 10.17354/ijss/2015/342.
- Lewis CW. 2009. Dental care and children with special health care needs: A population-based perspective. *Acad Pediatr*. 9:420-6
- McClure DB. 2014. A comparison of toothbrushing technics for the preschool child. *J Dent Child*. 33:205-10.
- Mourão Pinho, R.C, Maia Santiago, L., de Almeida, R., de Carvalho Farias Vajgel, B., Cimdões, R. 2017. Evaluation of oral hygiene in patients with visual disabilities. *International Medical Society*. 10:187. doi: 10.3823/2457.
- Reisine S., Schensul, J.J., Goldblatt S. Radda, K., Foster-Bey, C., Acosta-Glynn, C. Miron-Carcamo, L., Ioannidou, E. 2015. A bi-level intervention to improve oral hygiene on older and disabled adults in low-income housing: results of a pilot study. *Community Dental Health* 33:127-132.
- Seekins, T., Drum, C., Kimpton, T., Peterson, J., Suzuki, R., Heller T., Krahn, G., McCubbin, J., Rimmer, J., White G. 2017. Community-Based Health Promotion Interventions for People with Disabilities: A Systematic Scoping Review. *Front Public Health*. 5:24. doi: 10.3389/fpubh.2017.00024.
- Waldron, C., MacGiolla Phadraig, C., Nunn, J., Comiskey, C., Donnelly-Swift, E., Guerin, S., Clarke, M.J. 2017. Oral hygiene programmes for people with intellectual disabilities (protocol). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4, art. no. CD012628. doi: 10.1002/14651858.CD012628.

Hacia un modelo de evaluación de las competencias emocionales en los estudiantes de enfermería

Towards an evaluation model of emotional competencies in nurse students

VÍCTOR MOREDA DE FIGUEROA

Y SAMIR MOHAMEDİ ABDELKADER

Facultad Enfermería, Fisioterapia y Podología, UCM

vicmored@ucm.es, samirmoh@ucm.es

Resumen: En los últimos años múltiples estudios han demostrado la importancia de la inteligencia emocional para el desarrollo profesional óptimo de los alumnos de enfermería. Este trabajo nace como respuesta ante la necesidad de una herramienta que permita medir de forma clara y objetiva las competencias emocionales de los estudiantes de enfermería. Tras haber realizado una revisión bibliográfica de artículos científicos y bibliotecas online entre las que destacan Pubmed, Medline Plus, ENFISPO y SCIELO en la que se ha tenido en cuenta la fecha de publicación y aquellos con mayor número de citaciones, se ha analizado los diferentes métodos para evaluar este factor, tales como las medidas de autoinforme, las medidas de habilidad o el método ECOE, concluyendo que la información que aportan, aunque pertinente podría estar más adaptada al contexto académico. En el presente trabajo, se propone una nueva herramienta que pretende reunir las ventajas de los tres anteriores y completar la información que aportan a través de un role-playing en el que se evaluará al alumno mediante una rúbrica sencilla, de forma que tanto alumnos como profesores puedan emplearla sin formación específica. De este modo, el alumno identificará las áreas de mejora en su desempeño y los aspectos correctos de su práctica, de manera que esta rúbrica, no solamente sirva como un instrumento de evaluación sino que además pueda ser útil para el desarrollo de las competencias profesionales del alumno de enfermería.

Palabras clave: Competencia emocional, inteligencia emocional, estudiante de enfermería y rúbrica.

Abstract: During the past years, multiple studies have demonstrated the importance of emotional intelligence for the positive professional

development of nurse students. This study has been created due to the need of an instrument that can allow us to measure clearly and objectively the emotional competencies of the nurse students. After having done a bibliographical review of scientific articles and libraries online such as Pubmed, Medline Plus, ENFISPO and SCIELO in which we have taken into account the publication date and the number of citations, we have analysed the different existing methods to evaluate this emotional component, such as self-report- measures, the ability measures or the ECOE method. We conclude that the information they provide, even though it is pertinent, could be better adapted to the academic environment. In this project, we suggest a new tool that will include the advantages of the three methods mentioned above and complete the information with the role-playing that will evaluate the student according to a simple rubric, this way anyone can use it without previous specialized knowledge. Consequently, the student will be able to identify improvements in their performance and recognize the correct aspects of their enactment, as a result of this, apart from using it as a tool for auto-evaluation; it can be considered for the personal development of the nurse student.

Key words: Emotional competence, emotional intelligence, nurse student and rubric.

1. INTRODUCTION

Emotional intelligence as it was proposed by Salovey and Sluyter (1997) is the set of activities whose objective is to perceive and evaluate precisely emotions, access and/or produce feelings when they ease the thinking process; to understand emotions and intellectual and emotional growth.

Several studies have demonstrated the benefits of emotional intelligence during both professional exercise and nurse training, Fernández *et al* (2012) performed a study with nurse students in which he concluded that emotional comprehension and awareness impact positively in academic results. Moreover, Codier *et al* (2009) carried out another study with professional nurses and demonstrated that those with highest emotional intelligence marks present better labour performance. As well, some more recent studies have taken place, for example the one carried by Pulido-Martos *et al* (2016) with 127 nurse students during their practice progress in clinics in which they realized that emotions are the main prediction factor of occupational stress in their practices and that a high level of emotional intelligence made it easier to cope with stressful situations. Finally, Siles-González *et al* (2017) obtained positive results about emotional perception, regulation and comprehension concluding that the scale TMMS-24 is relevant for evaluating emo-

tional intelligence, but qualitative studies must be used to obtain a deeper knowledge about this phenomenon.

Given the crucial importance of this concept in the nurse's labour, it is considered that a tool that enables us to evaluate the pupil's emotional competencies is utterly necessary. Understanding emotional competence as the set of knowledge, capacities and attitudes necessary for understanding, expressing and regulating appropriately emotional phenomenon, as defined by Rafael Bisquerra (2007). By thus along the present Project, the existing tools will be analysed and one more adapted to academic needs will be proposed.

2. MATERIAL

In order to carry out this paperwork, an exhaustive bibliographic search has been done looking for scientific articles and libraries online from which we highlight Pubmed, Medline Plus, ENFISPO and SCIELO. Also, we have completed our research by employing academic Google.

The employed descriptors have been: Emotional intelligence, emotional competence and nursing and their Spanish translations. The Boolean operator used is "and".

For adapting the obtained results to the objective of this Project, the following inclusion criteria have been applied: The articles used must have been written exclusively in Spanish or English language. As well, the publication date has been taken into account, published in the last 10 years, although some slightly older articles have been cited due to their relevance on the subject. From the remaining results, we have used those with more citations and scientific evidence.

3. RESULTS

Multiple studies have empirically demonstrated that the high stress level experienced by nurse students during their clinic practicing process has boosted their lack of self-esteem, their insecurity, depression, somatic disorders, sleeping disorders and physical extenuation affecting in a negative way their personal development. (Chan, Creedy, Chua, & Lim, 2011; Montes-Berges & Augusto, 2007; Watson, Dreary, Thompson, & Li, 2008).

Recently, several authors have investigated the impact of emotional intelligence in both physical and psychological health in different contexts, obtaining positive results. Ahead, we present a recompilation made by Aradilla that sums them up:

Table 1: Extracted from Aradilla, 2013. Translated by Víctor Moreda.

Authors	Tools for measuring EI	Sample	Main results
Fernández <i>et al.</i> (2012)	TEIQUE-SF	81 nurse students	Emotional consciousness and comprehension have a positive impact in academic results.
Benson <i>et al.</i> (2012)	Bar-On EQ-i	52 nurse students	Along the career no significant differences were found in terms of emotional intelligence.
Chan <i>et al.</i> (2011)	TMMS	112 nurse students	Emotional intelligence has a positive relation with health condition.
Por <i>et al.</i> (2011)	SEIS	130 nurse students	Results proved positive correlation between emotional intelligence and wellness and the perceived competence and negative with stress.
Beauvais <i>et al.</i> (2011)	MSCEIT	87 nurse students	Emotional intelligence is positively related with performance.
Benson <i>et al.</i> (2010)	Bar-On EQ-i; Short	100 nurse students (25 per course)	Students had appropriate social and emotional capacities. Their punctuations in every case were over 98 points.
Augusto Landa <i>et al.</i> (2009)	TMMS	135 nurse students	Results showed positive correlation between clarity and repair with selfconcept

In the bibliography reviewed for this work we have found two main tools to measure emotional competences:

On the one hand, self-report measures have been created, consisting in short statements in which the student expresses his emotional intelligence through his own perception of certain emotional abilities by using a Likert scale whose values go from 1 (never) to 5 (very frequently). (Sosa, 2008)

On the other hand, ability measures whose essence is a set of tasks in which a student must resolve certain emotional problems. Afterwards, his answers will be compared with objective and pre-determined evaluation criteria. Later on, the positive and negative issues of each one of them will be analysed. (Mayer *et al.*, 1999; Mayer, 2001).

4. DISCUSSION

Certain authors defend ability measures as the best evaluation method. Their main advantage held over self-report measures is their capacity of emotional knowledge or execution of a person at a task, further than their own perception about it. (Extremera & Fernández-Berrocal, 2007)

Nonetheless, other authors, such as Gohm (2003) affirm that an individual's self-confidence, perception and expectations determine their use. In other words, those people who trust themselves less, will not use their capacities in an adequate way.

Both of this aspects which at first could seem to oppose each other, can give us complementary information depending on the project's objective. Nevertheless, it must not be forgotten that these two evaluation methods present certain limitations and difficulties when it is time for example of giving an index of the real ability for regulating and processing emotions of a certain individual. (Fernández-Berrocal & Extremera, 2005).

As an answer to the aforementioned limitations, an Objective Structured Clinical Evaluation tests (ECOE) have been created. One of their objectives is to measure the emotional competencies of future professionals. This method has two separate parts, firstly, it evaluates an individual's knowledge by using open questions with a short answer and multiple choice questions. Secondly, it evaluates attitudinal skills and techniques by simulations with actors or mannequins. Therefore this method would allow the evaluation of emotional competencies. (Fernández- Berrocal et al, 2011)

Although this last method is an advance compared with the two previous ones, it continues to present some limitations, for instance, the situational information that it provides is always from preset situations, as a result of which we remain unable to measure the emotional competencies of the subject in a real situation.

With the goal of overcoming this inconvenience born from the ECOE method, a rubric could be used as the evaluation method, understanding for such an evaluation tool which establishes levels to measure the quality of the different items with which an objective, a competence, could be developed during the learning process. (Goodrich, Andrade & Heidi, 1997).

5. CONCLUSIONS

After having accomplished this bibliographical research and having analysed the different studies that have been made, we conclude that emotional intelligence and the development of emotional competencies are crucial for professional nurse and therefore for those who are being trained to become one of them. Given this fact, it is of vital importance to dispose of tools that enable us to measure emotional intelligence in nurse students.

The most frequent methods for measuring this item have been analysed. Both the self-report measures and the ability measures offered biased information about the emotional competencies of the subject, even when they were combined. As an answer to this, the ECOE method was born, trying to give situational information, but continuing to fail to afford information of the emotional competencies of the subject during an emotionally stressful situation.

For this reason, a new model which offers more information and as precise as possible, is proposed: A clinical situation in which high emotional skills are needed will be simulated. The pupil will have his performance evaluated externally on his interpersonal competencies by using a simple rubric that does not require an expert for taking the evaluation into clinical practice. Likewise, in order to measure his intrapersonal competencies, aiming to obtain information as complete as possible, another rubric will be given to the student in which he will evaluate his own experience.

By following this method, we would manage to obtain real and relevant information about the emotional intelligence of the pupil, by employing a simple tool usable by everyone, simplifying the process and unifying the benefits of the three methods that have already been explained.

The rubric enables the student to identify the correct aspects of his performance and to precise those areas that need improvement, transforming this tool, not only in an evaluation instrument, but also into a vehicle for the development of his emotional competencies and the resolution of the clinical situations during their practice period. Ensuring the development of everything learned.

BIBLIOGRAPHY

- Aradilla-Herrero, A. 2013. *Inteligencia Emocional y variables relacionadas en Enfermería*. (Tesis doctoral). Universitat de Barcelona. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10803/119774>.
- Bisquerra, R. & Perez, N. 2007. Las competencias emocionales. *Educación XXI*: 61-82.
- Chan, M., Creedy, D., Chua, T. & Lim, C. 2011. Exploring the psychological healthrelated profile of nursing students in Singapore: a cluster analysis. *Journal Of Clinical Nursing*, 20(23/24):3553-3560.
- Codier, E., Kamikawa, C. & Schoultz, J. 2009. Emotional intelligence, performance, and retention in clinical staff nurses. *Nursing Administration Quarterly*, 33(4): 310-316.
- Extremera, N. & Fernández-Berrocal, P. 2007. Una guía práctica de los instrumentos actuales de evaluación de la inteligencia emocional. En: J. M. Mestre, & P. Fernández-Berrocal (Coords.), *Manual de inteligencia emocional*. págs. 99-122. Madrid: Ediciones Pirámide.
- Fernández, R., Salamonson, Y. & Griffiths, R. 2012. Emotional intelligence as a predictor of academic performance in first year accelerated graduate entry nursing student. *Journal of Clinical Nursing*, 21(23-24): 3485-3492.
- Fernández-Berrocal, P. & Extremera, N. 2005. La inteligencia emocional y la educación de las emociones desde el Modelo de Mayer y Salovey. *Revista Interuniversitaria de Formación del Profesorado*, 19(3): 63-93.
- Fernández Berrocal, P., Extremera, N., Palomera, R., Ruiz-Aranda, D., Salguero, J. M. & Cabello, R. 2011. *Inteligencia emocional: 20 años de investigación y desarrollo*. Santander: Fundación Botín.
- Gohm, C. L. 2003. Mood regulation and emotional intelligence: Individual differences. *Journal of Personality and Social Psychology*, 84(3): 594-607.
- Goodrich Andrade, H. 1997. *Understanding rubrics*. Educational leadership.
- Mayer, J. D. 2001. Primary divisions of personality and their scientific contributions: From the trilogy-of-mind to the systems set. *Journal for the Theory of Social Behaviour*, 31(4): 449-477.
- Mayer, J. D., Caruso, D. R. & Salovey, P. 1999. Emotional intelligence meets traditional standards for an intelligence. *Intelligence*, 27: 267-298.
- Montes-Berges, B. & Augusto, J.M. 2007. Exploring the relationship between perceived emotional intelligence, coping social support and mental health in nursing students. *Journal of Psychiatric and Mental Health Nursing*, 14:163-171.
- Pulido-Martos, M., Augusto-Landa, J. & López-Zafra, E. (2016). Estudiantes de Enfermería en prácticas clínicas: el rol de la inteligencia emocional en los estresores ocupacionales y bienestar psicológico. *Index Enferm.* 25 (3): 215-219.
- Salovey, P & Sluyter, D. J. (1997). *Emotional development and emotional intelligence*. New York: Basic Books.

- Siles-González, J., Noreña-Peña, A. L. & Solanp-Ruiz, C. 2017. La inteligencia emocional durante las prácticas clínicas de alumnos de enfermería. Un enfoque desde la antropología educativa aplicada a las prácticas clínicas. *Ene.* 11(2)
- Sosa Correa, M. 2008. *Escala autoinformada de inteligencia emocional (EAIE)*. Madrid. Universidad Complutense. <<https://eprints.ucm.es/8685/>>
- Watson, R., Dreary, I., Thompson, D. & Li, G. 2008. A study of stress and burnout in nursing students in Hong Kong: a questionnaire survey. *International Journal of Nursing Studies*. 45:1534–1542.

Utilidad de la PCR múltiple para el diagnóstico de infecciones del Sistema Nervioso Central

Multiple PCR for the diagnosis of Central Nervous System infections

SILVIA MORENO RODRÍGUEZ, MARTA PARDO DE VERA GARCÍA,
BEATRIZ QUILEZ CALLEJA, PAULA SARALEGUI GONZÁLEZ
Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid
pausaralegui@hotmail.com

Resumen: Las infecciones del Sistema Nervioso Central constituyen un grupo de enfermedades cuya alta morbilidad y mortalidad exigen la intervención precoz para evitar el desarrollo fatal de la enfermedad y las secuelas que pueda originar. Clásicamente se distinguen dos grupos etiológicos condicionantes del manejo clínico del paciente: las meningitis bacterianas, que precisan de la implantación de antibioterapia precoz; y las meningitis víricas, algunas de las cuales presentan un curso autolimitado y no requieren hospitalización. El método *gold standard* para su diagnóstico es el cultivo de líquido cefalorraquídeo (LCR). En nuestro estudio se han evaluado la sensibilidad, especificidad, tiempo de respuesta y la relación coste-beneficio de una técnica PCR múltiple frente al método de referencia. Se procesaron 441 muestras de LCR, realizándose en todas ellas cultivo y PCR múltiple. El cultivo fue positivo en 6 muestras (5 bacterias y un hongo) mientras que la PCR múltiple fue positiva en 55 casos (24 bacterias, 30 virus y un hongo), $p < 0,0009$. El tiempo de respuesta resultó ser significativamente menor en la PCR múltiple, de dos horas frente a las 71,84 del cultivo. El coste de todo el procedimiento con la introducción de la PCR múltiple resultó en un descenso estadísticamente significativo del coste global, como consecuencia de la disminución del número de ingresos hospitalarios. En conclusión, la PCR múltiple se erige como una herramienta prometedora para la mejora del diagnóstico de la meningoencefalitis a un coste más eficiente.

Palabras clave: diagnóstico, meningoencefalitis, cultivo, PCR múltiple.
Abstract: Central Nervous System infections conform a group of diseases whose high morbidity and mortality demand an early medical intervention in order to avoid fatal outcomes and the sequels it may carry.

Pathogens have classically been divided into two groups, conditioning the patient's clinical management: bacterial meningoencephalitis, which requires an early start of antibiotic treatment; and viral meningitis, which mainly causes self-limited clinical pictures in which hospitalization is unnecessary. Cerebrospinal fluid culture is the current gold standard method for this disease's diagnosis. The aim of our study was to evaluate multiple PCR's sensitivity, specificity, response time and cost-benefit analysis; in contrast with the current reference method. 441 cerebrospinal fluid samples were processed both by culture and multiple PCR. As a result, the culture was positive in 5 samples (5 bacteria and 1 fungus), while multiple PCR was positive in 55 cases (24 bacteria, 30 viruses and 1 fungus), $p < 0,0009$. Response time proved to be significantly lower when using the multiple PCR technique: 2 hours, in contrast with culture's 71,84 hours. Health expenditure was also significantly reduced by introducing multiple PCR, as a consequence of the decrease in patients' requirement for hospitalization. As a conclusion, multiple PCR emerges as a promising resource for the diagnosis of meningoencephalitis at a more efficient cost.

Key words: diagnosis, meningoencephalitis, culture, multiple PCR

1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones del Sistema Nervioso Central (SNC) constituyen un grupo de enfermedades cuya alta morbilidad y mortalidad exigen la realización de un diagnóstico y tratamiento precoces para evitar el desarrollo fatal de la enfermedad y las secuelas que pueda originar.

1.1. Epidemiología

Los patógenos más frecuentemente identificados en todas las edades son virus, siendo Enterovirus (EV) y Virus Herpes Simple (VHS) los identificados con mayor frecuencia. En el caso de las bacterias, varía según el grupo de edad; siendo *Streptococcus agalactiae* el más frecuente en periodo neonatal y *Neisseria meningitidis* serotipo B a partir de los 3 meses. En adultos, *Streptococcus pneumoniae* es el primer causante (Codina, M. G *et al.*, 2011).

1.2. Manejo de la sospecha clínica de meningitis

Las manifestaciones clínicas de forma aislada no permiten distinguir entre etiología bacteriana y vírica, sin embargo, las primeras presentan un curso devastador sin tratamiento y el segundo grupo son, en su mayoría, infecciones autolimitadas cuyo tratamiento es de soporte y sintomático (Tunkel, A. R. *et al.*, 2004). Por tanto, desde el punto de vista clínico, ante todo paciente con un cuadro clínico sugestivo de meningoencefalitis se recomienda

asumir *a priori* la etiología bacteriana del mismo y no demorar la implantación de antibioterapia empírica con Cefotaxima (Artigao, F. B. *et al.*, 2011; Tunkel, A. R. *et al.*, 2004) al mismo tiempo que se ponen en marcha medidas encaminadas a la identificación del agente etiológico.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En base a estudios previos que sugieren la superioridad técnica de la PCR múltiple (Conca, N. *et al.*, 2016; Hanson, K. E. *et al.*, 2015; Wootton, S. H. *et al.*, 2016) y a la experiencia clínica, nuestro estudio plantea la hipótesis de que la PCR múltiple primera ofrece ventajas frente al cultivo bacteriano en lo que a sensibilidad, especificidad, tiempo de respuesta y relación coste-beneficio respecta.

Así pues, en nuestro estudio se establecen tres objetivos:

1. Comparación de la potencia diagnóstica entre la técnica de PCR múltiple y cultivo.
2. Comparación del tiempo de respuesta entre la técnica de PCR múltiple y cultivo.
3. Estudio de la relación beneficio-coste de la técnica de PCR múltiple.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

El método *gold standard* para el diagnóstico microbiológico de infecciones en el SNC consiste en la realización de cultivos en caldos y placas de agar. Por otro lado, el sistema de PCR múltiple empleado en nuestro estudio es el Panel Meningitis/Encefalitis (ME) Film Array®, desarrollado por *BioFire Diagnostics*. Permite la identificación simultánea de los 14 patógenos causantes de meningoencefalitis más frecuentes, entre los que se incluyen bacterias (*Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*), virus (Citomegalovirus, Enterovirus, Virus Herpes Simple 1, Virus Herpes Simple 2, Herpes Humano 6, *Parechovirus* Humano, Varicela Zoster Virus) y levaduras como *Cryptococcus Neoformans*/ *Gatti*.

Se procesaron 441 muestras de LCR procedentes del Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz durante un periodo de 10 meses (entre mayo de 2016 y febrero de 2017), realizándose en todas ellas los siguientes análisis: cultivo y PCR múltiple. Los resul-

tados fueron recogidos en una base de datos y procesados estadísticamente con el programa informático IBM SPSS Statistics 15.0.

4. RESULTADOS

De las 441 muestras analizadas 251 procedían de varones (56,9%) y 190 de mujeres (43,1%). La media de edad fue de 47,28 años y la mediana de 43 años.

El resultado de la PCR múltiple fue negativo en 386 ocasiones (87,5% del total) y positivo en 54 muestras (12,5% del total): 23 bacterias, 30 virus y 1 hongo. Por otro lado, las técnicas clásicas proporcionaron resultados negativos en 435 casos (98,7% del total) y positivos en 6 casos (1,3% del total): 5 bacterias y 1 hongo (Figura 1).

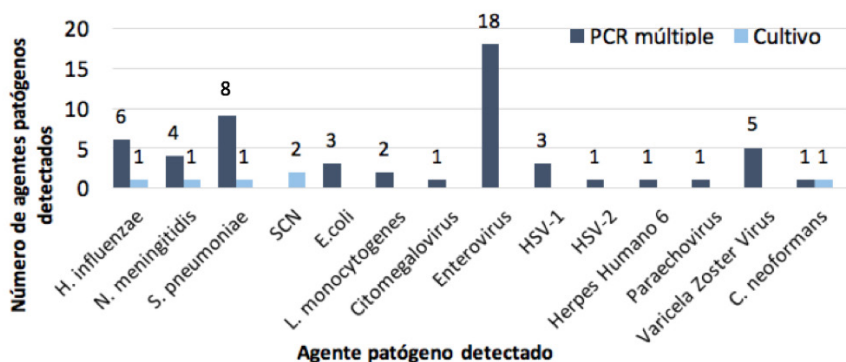


Figura 1. Frecuencia absoluta de patógenos detectados por PCR múltiple (n=55) y cultivo (n=6).

4.1. Comparación de la potencia diagnóstica entre PCR múltiple y técnicas clásicas.

El cultivo (Tabla 1) presentó 2 falsos positivos, *Staphylococcus coagulasa* negativa. En el caso de la PCR múltiple (Tabla 2) 14 resultados fueron falsos positivos: 7 *S. pneumoniae*, 1 *E. coli*, 5 *H. influenzae*, 1 Parvovirus.

La sensibilidad de la técnica en el caso del cultivo es del 10%, mientras que en la técnica de PCR múltiple es del 100% resultado estadísticamente significativo con $p < 0,0009$ al aplicar el test de Mc

Tabla 1. Resultados de la técnica de cultivo.

	Meningoencefalitis	No meningoencefalitis	
Cultivo +	4	2	6
Cultivo –	36	399	435
	40	401	441

Tabla 2. Resultados de la técnica de PCR múltiple.

	Meningoencefalitis	No meningoencefalitis	
PCR +	40	14	54
PCR –	0	387	387
	40	401	441

Nemar. La especificidad del cultivo es del 99,5% mientras que en la PCR múltiple es del 96,5%, resultado estadísticamente significativo con $p < 0,0009$ al aplicar el test de Mc Nemar.

Los valores predictivos dependen de la prevalencia de la enfermedad en la población de estudio, que en nuestro caso es del 9,1%. El valor predictivo positivo es del 66,7% en el cultivo y del 74,1% en PCR múltiple. El valor predictivo negativo es de 91,7% en el cultivo y del 100% en la PCR múltiple.

4.2. Comparación de los tiempos de respuesta entre PCR múltiple y técnicas clásicas

El tiempo medio de respuesta de las técnicas clásicas es de 71,84 horas, mientras que el de la PCR múltiple es de 2 horas. Se aplicó el test T de Student para la comparación de medias de muestras independientes y se demostró la diferencia entre medias, con $p < 0,0009$.

4.3. Estudio de la relación coste-beneficio de la técnica de PCR múltiple.

El coste de un ciclo de PCR múltiple es 167 € y el coste promedio diario de hospitalización es de 657 € (Gobierno de Canarias, 2002). Se ha calculado el coste del proceso hospitalario en dos situaciones hipotéticas.

En la primera situación se asume que el 100% de pacientes con PCR múltiple negativa son ingresados. De este modo, el coste medio por paciente empleando el cultivo como técnica diagnóstica es de 1.971 € y empleando la técnica de PCR es de 1.956,69 €. Aplicando el test T de Student se obtiene que no hay diferencias estadísticamente significativas, con $p=0,5$.

En una segunda situación más realista, se calcula que únicamente el 50% de los pacientes cuyo resultado de PCR múltiple es negativo son ingresados. El coste empleando el cultivo es de 1.971 € y empleando la PCR múltiple es de 1.091,86 €. Aplicando el test estadístico T de Student la diferencia resulta ser estadísticamente significativa, con $p<0,0009$.

5. DISCUSIÓN

El primer objetivo del estudio es la comparación de la potencia diagnóstica de ambas técnicas. La PCR múltiple detectó un mayor número de patógenos pues, a diferencia del cultivo, permite la detección de agentes virales, con las consecuencias a nivel de manejo clínico que ello conlleva. Los resultados obtenidos evidencian un aumento de la sensibilidad y de los valores predictivos positivos y negativos; no tanto así de la especificidad (aunque esta sigue siendo alta) empleando la técnica de PCR múltiple.

El segundo objetivo nuestro estudio es el análisis comparativo de los tiempos de respuesta con ambas técnicas, concluyendo que la PCR múltiple permite la emisión de un diagnóstico microbiológico en un tiempo significativamente menor que el cultivo.

Nuestro tercer objetivo es demostrar la eficiencia de la técnica de la PCR múltiple frente a la técnicas convencionales.

A pesar de que el coste del material necesario para realizar el cultivo es menor que el del material empleado en la técnica de PCR múltiple, el coste global del procedimiento es mayor al emplear el cultivo como método diagnóstico, pues mientras se espera el resultado del mismo (71,84 horas) el paciente ha de permanecer hospitalizado por el potencial riesgo vital. Así, la posibilidad de detectar precozmente (en 2 horas) la presencia de virus en LCR a través de PCR múltiple permite prescindir de la hospitalización, con la reducción del coste que ello conlleva.

Se han estudiado dos situaciones hipotéticas. En el caso de que todos los pacientes sean ingresados, el uso de PCR múltiple no conlleva una reducción significativa del coste sanitario, mientras que en una segunda situación en la cual el 50% de los pacientes con PCR negativa no sean ingresados, se produce un ahorro significativo.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio ponen de manifiesto que la técnica de PCR múltiple presenta una serie de ventajas relevantes desde el punto de vista clínico, pues aumenta el número de patógenos detectados en un periodo de tiempo menor que el cultivo y a un coste más eficiente. De este modo, la PCR múltiple se erige como una herramienta prometedora para el diagnóstico microbiológico de los pacientes con sospecha de meningoencefalitis.

6. CONCLUSIONES

Objetivo 1. La PCR múltiple posee una sensibilidad significativamente mayor que el cultivo.

Objetivo 2. La PCR permite la obtención de resultados con valor diagnóstico en un tiempo menor que los métodos convencionales.

Objetivo 3. El coste total del proceso diagnóstico se reduce al introducir la PCR múltiple en el proceso diagnóstico, especialmente en el supuesto de que el 50% de los pacientes con resultado de PCR negativa fueran dados de alta desde el servicio de Urgencias, lo cual resulta más realista.

BIBLIOGRAFÍA

- Artigao, F. B., López, R. V. & del Castillo Martín, F. 2011. Meningitis bacteriana. In *Sociedad Española de Infectología Pediátrica. Protocolos terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica*. Ergon Madrid.
- Codina, M. G., de Cueto, M., Vicente, D., Echevarría, J. E. & Prats, G. 2011. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del sistema nervioso central. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 29(2): 127-134.
- Conca, N., Santolaya, M. E., Farfan, M. J., Cofre, F., Vergara, A., Salazar, L. & Torres, J. P. 2016. Etiologic diagnosis in meningitis and encephalitis molecular biology techniques. *Revista chilena de pediatría*. 87(1): 24-30.
- España. Orden 731/2013, de 6 de septiembre, del Consejero de Sanidad, por la que se fijan los precios públicos por la prestación de los servicios y actividades de naturaleza sanitaria de la Red de Centros de la Comunidad de Madrid [Internet]. Boletín Oficial de la Comunidad

de Madrid, 10 septiembre de 2013, núm. 215, pp. 8- 30. [consultado 29 de diciembre de 2018]. Disponible en:

<http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-Disposition&blobheadervalue1=filename%3DBOCCM-20130910-1.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1352916926357&ssbinary=true>

Hanson, K. E., Slechta, E. S., Killpack, J. A., Heyrend, C., Lunt, T., Daly, J. A., ... & Blaschke, A. J. 2015. Preclinical assessment of a fully automated multiplex PCR panel for the detection of central nervous system pathogens. *Journal of clinical microbiology*. 54(3):785-7. doi: 10.1128/JCM-02850.

Thomson, R.B. & Bertram, H. 2001. Laboratory diagnosis of central nervous system infections. *Infectious Disease Clinics*. 15(4):1047-1071.

Tunkel, A.R., Hartman, B.J., Kaplan, S.L., Kaufman, B.A., Roos, K L., Scheld, W.M. & Whitley, R.J. 2004. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clinical infectious diseases*. 39(9): 1267-1284.

Wootton, S.H., Aguilera, E., Salazar, L., Hemmert, A.C. & Hasbun, R. 2016. Enhancing pathogen identification in patients with meningitis and a negative Gram stain using the BioFire FilmArray® Meningitis/Encephalitis panel. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 15(1): 26.

AMP-activated protein kinase: exploring new activators

Proteína quinasa activada por AMP: explorando nuevos activadores

ISABEL DE ROJAS¹, APHRODITE CHOUMESSI²,

JAVIER LACADENA¹ Y MARK RIDER²

1. Biology Faculty, Universidad Complutense de Madrid, Spain

2. Protein Phosphorylation (PHOS), de Duve Institute,

Université catholique de Louvain, Brussels, Belgium

iderojas@ucm.es

Abstract:

AMP-activated protein kinase (AMPK) is an energy sensing protein kinase that regulates blood glucose levels and cell growth, and therefore has been proposed as a target for treating diabetes and cancer. Many phytochemicals have been shown to activate AMPK, but for most, the precise mechanisms have not been elucidated. The purpose of this work was to study the effects of chrysin, hispidulin, quercetin and a methanolic strawberry extract on AMPK activation, aiming to find optimal concentrations for compound treatment and their activation mechanism. Firstly, Mouse Embryonic Fibroblasts (MEFs) were incubated with increasing concentrations of compounds, and cells were harvested monitoring protein phosphorylation by immunoblotting. Secondly, AMPK was assayed *in vitro* by incubating with increasing concentrations of the phytochemicals. Immunoblot analysis indicated dose-dependant increase in AMPK phosphorylation by chrysin, quercetin and hispidulin treatment, as well as increased phosphorylation of AMPK downstream targets acetyl-CoA carboxylase (ACC) and eukaryotic elongation factor 2 (eEF2), while the strawberry extract had weaker effects. Unexpectedly, *in vitro* assays indicated dose-dependent inhibition of AMPK activity, especially by quercetin. These results indicate AMPK activation by the compounds *in vivo*, presumably by promoting LKB1-induced phosphorylation of AMPK α Thr172. However, *in vitro*, the compounds could have an inhibitory effect. Further experiments should be conducted to confirm the results obtained in this study.

Key Words: AMPK, phytochemicals, phosphorylation, MEFs, immunoblotting.

Resumen

La proteína quinasa activada por AMP (AMPK) es una proteína quinasa detectora de energía que regula los niveles de glucosa en sangre y el crecimiento celular, y por tanto ha sido propuesta como diana terapéutica para tratar diabetes y cáncer. Muchos fitoquímicos son capaces de activar a la AMPK, pero en la mayoría, los mecanismos exactos no han sido dilucidados. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de la crisina, hispidulina, quercetina y de un extracto metanólico de fresa sobre la activación de AMPK, procurando encontrar las concentraciones óptimas de tratamiento, así como su mecanismo de activación. Primero, se incubaron fibroblastos embrionarios de ratón (MEF o *mouse embryonic fibroblasts*) con concentraciones crecientes de los compuestos estudiados, y las células se recogieron para análisis de fosforilación utilizando técnicas de *immunoblotting*. En segundo lugar, se realizó un ensayo *in vitro* incubando AMPK inactiva con concentraciones crecientes de los fitoquímicos. En el análisis de *immunoblotting* se observó una fosforilación de AMPK dosis-dependiente en presencia de crisina, quercetina e hispidulina, así como fosforilación de acetil-CoA carboxilasa (ACC) y del factor eucariótico de elongación 2 (eEF2), mientras que el extracto de fresa mostró un efecto más débil. Inesperadamente, los ensayos *in vitro* indicaron una inhibición dosis-dependiente de la actividad de AMPK, sobre todo por quercetina. Estos resultados indican una activación de AMPK por los compuestos *in vivo*, presumiblemente por fosforilación de AMPK α Thr172 por LKB1. Sin embargo, *in vitro*, los compuestos podrían tener un efecto inhibitor. Se deberían realizar experimentos adicionales para confirmar los resultados obtenidos en este estudio.

Palabras clave: AMPK, fitoquímicos, fosforilación, MEFs, immunoblotting.

1. INTRODUCTION

The serine/threonine AMP-activated protein kinase (AMPK) has been shown to play crucial role in cellular energy homeostasis, responding to decreased energy levels by stimulating catabolic reactions, increasing ATP levels, and inhibiting anabolic processes (Guigas and Viollet 2016). AMPK activation simulates glucose uptake by skeletal muscle (Viollet *et al.* 2009) resulting from both genetic factors and inadequate adaptation to environmental changes. It is characterized by abnormal glucose and lipid metabolism due in part to resistance to the actions of insulin in skeletal muscle, liver and fat. AMP-activated protein kinase (AMPK, induces apoptosis, autophagy and inhibits cell growth (Kim and He 2013). These metabolic functions have sparked clinical interest in the finding of AMPK activators as potential treatment for diabetes and cancer.

AMPK can be activated by different mechanisms: 1) direct chemical activators bind allosterically to AMPK to stimulate its activity or prevent phosphorylation of AMPK α Thr-172 by pro-

tein phosphatases (eg. PP2C α). 2) the binding of AMP or ADP to CBS domains on the AMPK γ subunits induces a conformational change that prevents Thr172 dephosphorylation (Guigas and Viollet 2016). 3) an increase in intracellular AMP concentration promotes AMPK α Thr172 phosphorylation by LKB1 4) an increase in AMP allosterically stimulates AMPK activity and some of these effects are antagonized by ATP. Therefore, AMPK senses changes in AMP/ATP ratio which increases when energy levels fall to activate AMPK in order to stimulate catabolic reactions and ultimately increase ATP production (Li *et al.* 2015) and a promising drug target for the treatment of diabetes, obesity, and cancer. Here we present low-resolution crystal structures of the human α 1 β 2 γ 31 holo-AMPK complex bound to its allosteric modulators AMP and the glycogen-mimic cyclodextrin, both in the phosphorylated (4.05 μ m). Synthetic activators of AMPK have been developed, but their clinical use is limited due to its lack of selectivity, rapid degradation and low absorption in the body (Grahame, 2016). Plant-derived AMPK activators have therapeutic potential for treating human disease, but for most, their mechanism of action is unknown.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. *In vivo experiments*

Mouse Embryonic Fibroblasts (MEFs) were cultured in 4.5 g/L DMEM containing 10% FBS and 1% penicillin/streptomycin and grown to reach 70% confluency. Compounds diluted in DMSO at increasing concentrations (10, 30 and 100 μ M) were added to the cell incubations. AICAR 0.5 mM (known synthetic activator) was used as positive control. Cells were incubated at 37°C for 2 h prior to harvest. Cells were harvested by scraping into 150 μ l of cold pre-prepared lysis buffer. Lysates were centrifuged and transferred to tubes for protein concentration estimation by Bradford assay. SDS-PAGE was carried out, and proteins were transferred to a nitrocellulose membrane by electro-elution for immunoblotting. Once this was completed and after proper washing, the membranes were overlaid with a photographic film for protein bands recognition by chemiluminescence. This experiment was repeated on 4 different cell preparations.

2.2. *In vitro* experiments

Increasing concentrations of compounds were mixed with MOPS, 200 μ M SAMS peptide (a synthetic AMPK substrate) and 1 mM DTT, on ice. Non-active (“naïve”) AMPK $\alpha 1\beta 1\gamma 1$ (5 μ L diluted 10-fold) was added and the assay tubes were incubated in a final volume of 20 μ L at room temperature for 5 min. To start the reactions, 2 mM [γ - 32 P] Mg ATP (specific radioactivity 200 cpm/pmol) was added to each tube. After 5 min at 30°C, a 5 μ L aliquot of reaction mixture was spotted onto phosphocellulose P81 paper. The papers were immediately plunged into cold 75 mM orthophosphoric acid to stop the reaction, and were washed 3 times for 10 min in cold 75 mM orthophosphoric acid, and for a further 5 min in acetone, before drying for scintillation counting with 4 ml Ultima GoldTM scintillation fluid. AMPK activities were calculated as pmol of 32 P incorporated into SAMS peptide per min.

For statistical analysis, after confirming that the data followed a normal distribution, a Student’s t-test for paired samples was carried out using the software SPSS v15.0 and P values <0.05 were considered significant.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Immunoblot analysis (Figure 1) indicated increased AMPK phosphorylation following treatment of MEFs with chrysin, quercetin and hispidulin treatment, as well as increased downstream AMPK-target phosphorylation of ACC and eEF2, while the strawberry extract had weaker effects (data not shown). Although some of the P values here presented (tables 1-3) were not <0.05, their proximity (considering the sample size limitation) could be relevant. The most significant values were generally obtained at the highest compound concentrations, whereas the lowest seemed to have a weaker effect on AMPK activation. This suggests a dose-dependent AMPK activation by the compounds.

Unexpectedly, *in vitro* assays indicated dose-dependent inhibition of AMPK activity, best observed with quercetin (figures 1-3). *In vitro* AMPK inhibition by compounds that act as activators in intact cells has been observed in other studies, and it could be explained by effects on LKB1 activity (Langendorf, Scott, and Kemp 2017). LKB1 is a tumor suppressor, and an upstream activating

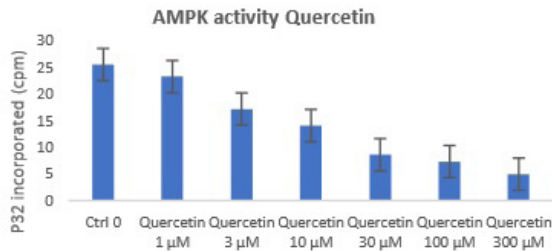
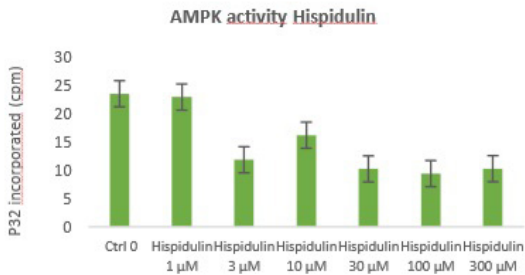
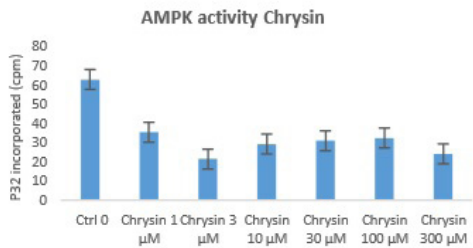


Figure 1. AMPK activation by compound treatment in MEFs. Following immunoblotting, immunoreactive protein bands were detected by chemiluminescence. GAPDH was used as a loading control. The intensity of the bands is proportional to the degree of phosphorylation of each protein and increased ACC and eEF2 band intensities were used as a readout of AMPK activation.



Figures 1-3: results of the *in vitro* AMPK assays are shown for each compound, calculating AMPK activity in terms of ^{32}P -incorporation into SAMS peptide (AMPK substrate used).

Table 1: Comparison between paired samples of pAMPK/GAPDH ratios.

pAMPK/GAPDH	Mean	Typical deviation	95% confidence interval for mean difference		Significance (p value)
			Sup	Inf	
Ctr +DMSO - Hisp 100 μ M	-1.476	.790	-2.734	-0.218	.033
Ctr +DMSO - Hisp 30 μ M	-.606	.400	-1.243	0.031	.056
Ctr +DMSO - Hisp 10 μ M	-.352	.337	-0.889	0.184	.127
Ctr +DMSO - Quercetin 100 μ M	-.638	.533	-1.486	0.210	.096
Ctr +DMSO - Chrysin 100 μ M	-1.223	.898	-2.652	0.206	.072
Ctr +DMSO - Chrysin 30 μ M	-.672	.523	-1.504	0.160	.082
Aicar 0,5 mM - Hisp 100 μ M	-0.177	0.503	-0.978	0.624	.532
Aicar 0,5 mM - Quercetin 100 μ M	0.661	0.611	-0.311	1.634	.119
Aicar 0,5 mM - Chrysin 100 μ M	0.076	0.320	-0.433	0.584	.668

Table 2: Comparison between paired samples of peEF2/teEF2 ratios.

peEF2/teEF2	Mean	Typical deviation	95% confidence interval for mean difference		Significance (p value)
			Sup	Inf	
ctr+DMSO - Hispidulin 100 μ M	-1.070	0.677	-2.751	0.612	.112
ctr+DMSO - Quercetin 30 μ M	-0.624	0.194	-1.105	-0.143	.031
ctr+DMSO - Quercetin 10 μ M	-0.467	0.149	-0.838	-0.096	.032
ctr+DMSO - Chrysin 100 μ M	-1.106	0.667	-2.762	0.551	.103
AICAR 0,5 mM - Hispidulin 100 μ M	-0.219	0.250	-0.841	0.403	.270
AICAR 0,5 mM - Hispidulin 30 μ M	-0.273	0.601	-1.766	1.221	.515
AICAR 0,5 mM - Quercetin 30 μ M	0.227	0.443	-0.872	1.327	.468
AICAR 0,5 mM - Quercetin 10 μ M	0.384	0.745	-1.466	2.234	.466
AICAR 0,5 mM - Chrysin 30 μ M	-0.077	0.537	-1.410	1.256	.827
AICAR 0,5 mM - Chrysin 10 μ M	0.376	0.472	-0.796	1.548	.302

Table 3: Comparison between paired samples of pACC/tACC ratios.

pACC/tACC	Mean	Typical deviation	95% confidence interval for mean difference		Significance (p value)
			Sup	Inf	
Ctr +DMSO - Hisp 100 μ M	-2.047	1.089	-3.780	-0.314	.033
Ctr +DMSO - Hisp 30 μ M	-1.657	0.992	-3.235	-0.079	.044
Ctr +DMSO - Hisp 10 μ M	-0.520	0.529	-1.361	0.322	.144
Ctr +DMSO - Quercetin 100 μ M	-1.259	1.251	-3.249	0.732	.138
Ctr +DMSO - Quercetin 30 μ M	-0.345	0.268	-0.771	0.082	.082
Ctr +DMSO - Chrysin 100 μ M	-2.015	1.933	-5.091	1.061	.128
Ctr +DMSO - Chrysin 30 μ M	-1.835	1.808	-4.711	1.042	.135
Aicar 0,5 mM - Hisp 100 μ M	0.742	1.794	-2.113	3.597	.469
Aicar 0,5 mM - Quercetin 100 μ M	1.530	1.705	-1.182	4.243	.170
Aicar 0,5 mM - Chrysin 100 μ M	0.774	2.023	-2.445	3.994	.500
Aicar 0,5 mM - Chrysin 30 μ M	0.955	1.632	-1.643	3.552	.327

Tables 1-3: Statistical analysis of the phosphorylated/total protein ratios was carried out, pairing each compound (at different concentrations) with 1) the negative control with only DMSO, which represents basal protein phosphorylation, and 2) positive control AICAR, known AMPK synthetic activator.

In the negative control setting, p values <0.05 were highlighted as significant in red, while p values between 0.05-0.1 were indicated in orange.

In the positive controls with AICAR, all p values were >0.05, and consequently indicated AMPK activation. Only p values >0.10 were included on the tables (for space reasons).

kindase for AMPK through phosphorylation of AMPK α Thr172 (Shackelford and Shaw 2009).

4. CONCLUSIONS

The results of this work indicate that in intact cells, chrysin, quercetin and hispidulin activate AMPK in a dose-dependent manner, whereas *in vitro*, dose-dependent inhibition was observed, especially by quercetin. AMPK activation is presumably facilitated through increased AMPK α Thr172 phosphorylation by LKB1, but the exact mechanisms require further experimentation.

Despite the sample size limitation, the data hereby presented indicate that the phytochemicals studied are potential AMPK activators, and therefore have pharmacological interest.

REFERENCES

- Guigas, B., and B. Viollet. 2016. Targeting AMPK: From Ancient Drugs to New Small-Molecule Activators. *In Experientia Supplementum*. 107:327–50. doi.org/10.1007/978-3-319-43589-3.
- Hardie, D.G. 2016. Regulation of AMP-Activated Protein Kinase by Natural and Synthetic Activators. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 6(1): 1–19. doi.org/10.1016/j.apsb.2015.06.002.
- Kim, I. and Y. He. 2013. Targeting the AMP-Activated Protein Kinase for Cancer Prevention and Therapy. *Frontiers in Oncology*. 3: 1–12. doi.org/10.3389/fonc.2013.00175.
- Langendorf, C.G., J. Scott, and B.E. Kemp. 2017. Fake Inhibitors: AMPK Activation Trumps Inhibition. *Cell Chemical Biology*. 24(7): 775–77. doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.07.005.
- Li, X., L. Wang, X. Zhou, K. Jiyuan, P.W. De Waal, X. Gu, M.H. Eileen Tan, D. Wang, D. Wu, H.E. Xu, K. Melcher. 2015. Structural Basis of AMPK Regulation by Adenine Nucleotides and Glycogen. *Cell Research*. 25(1): 50–66. doi.org/10.1038/cr.2014.150.
- Shackelford, D.B. & R.J. Shaw. 2009. The LKB1-AMPK Pathway: Metabolism and Growth Control in Tumour Suppression. *Nature Reviews Cancer*. 9 (8): 563-575. doi.org/10.1038/nrc2676.
- Viollet, B., L. Lantier, J. Devin-Leclerc, S. Hebrard, C. Amouyal, R. Mounier, M. Foretz, and F. Andreelli. 2009. *Targeting the AMPK Pathway for the Treatment of Type 2 Diabetes*. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*. 14 (1): 3380-3400. doi.org/10.2741/3460.

Comparación de la higiene oral en niños con y sin discapacidad: un estudio de investigación

Comparison of oral hygiene in children with and without disabilities: a research study

BEATRIZ ROMERO TRIVIÑO

Facultad de Odontología, Universidad Complutense de Madrid.

bearom03@ucm.es

Tutor: Margarita Iniesta

Resumen: Objetivo: El objetivo de este estudio fue comparar la salud oral de niños plurideficientes con un grupo control sin discapacidad.

Material y método: se incluyeron en el estudio 50 sujetos (25 en el grupo test y 25 en el grupo control). Las variables analizadas fueron índice de placa (IP), índice de dientes con caries/ausentes/obturados (CAOD), tinción, maloclusión y empleo de aparatología.

Resultados: Con respecto a la media del IP y el CAOD, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo test y control ($p=0,824$ y $p=0,055$ respectivamente). La media de dientes ausentes y el porcentaje de tinción y de maloclusión fue mayor en el grupo test ($p=0,012$, $P=0,002$, $p=0,001$, respectivamente); y el índice de restauración fue mayor en el grupo control ($p=0,017$).

Conclusión: En este estudio, la prevalencia del IP y el CAOD no difiere entre ambos grupos, lo que podría significar que la supervisión del cepillado de los niños con plurideficiencia, por parte de sus cuidadores, repercute de alguna manera en su salud oral equiparándola a la de la población sin discapacidad.

Palabras clave: higiene oral; salud oral; discapacidad; niños

Abstract: Objective: The aim of this study was to compare the oral health between children with disabilities and a control group without disability.

Material and method: A total of 50 subjects were included in the study (25 in the test group and 25 in the control group). The analyzed variables were plaque index (PI), decayed / missing / filled teeth index (DMF), staining, malocclusion and the use of oral appliances.

Results: As regards to the mean of PI and DMF, it was not found statistically significant differences between the test and control group ($p = 0.824$ and $p = 0.055$, respectively). The mean of missing teeth and the percentage of staining and malocclusion were higher in the test group ($p = 0.012$, $P = 0.002$, $p = 0.001$, respectively); and restoration index was higher in the control group ($p = 0.017$).

Conclusion: In this study, the prevalence of PI and DMF were found not to be different between the two groups. It could mean that caregiver supervision of disabled children's toothbrushing has some impact on their oral health, matching it with children's oral health without disabilities.

Keywords: Oral hygiene; oral health; disability; children

1. INTRODUCCIÓN

La plurideficiencia se define como la disfunción severa o profunda de dos o más áreas del desarrollo, incluyendo siempre el déficit cognitivo. Actualmente, el número de personas con pluridis-capacidad se sitúa en un 0,5-0,7% a nivel mundial según la OMS (WHO, 2011).

Los problemas comunes bucales, tales como caries o enfermedades de las encías, afectan a todos los niños, y sobre todo a aquellos que poseen alguna discapacidad.

Algunos autores (Saez *et al.*, 2010) indican que la salud bucal de los pacientes con algún tipo de discapacidad es significativamente peor que la de la población general, pero el empleo de un cuidador supervisando su higiene debería tener un impacto positivo sobre la misma. Por tanto, la hipótesis de trabajo es que los niños discapacitados que están en un centro asistido y bajo la supervisión de cuidadores presentan índices de placa similares que los niños sin discapacidad. Se plantea como objetivo general, comparar los problemas bucodentales entre niños plurideficientes supervisados y niños sin discapacidad.

2. MATERIAL Y MÉTODO

Se trata de un estudio analítico transversal. En el grupo test se seleccionaron 25 pacientes procedentes del colegio Nuestra Señora de la Esperanza perteneciente a la asociación APANID de Getafe. En el grupo control se seleccionaron 25 pacientes de la clínica de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid (UCM).

Se establecieron una serie de criterios de inclusión y exclusión para realizar la selección del grupo test. En cuanto a los criterios

de inclusión: edad \leq de 20 años, sujetos que se encuentran bajo la supervisión de educadores especiales y sujetos con el suficiente nivel cognitivo como para desarrollar una interacción con el personal de referencia. En cuanto a los criterios de exclusión: sujetos con enfermedades que conlleven asociada una limitación psicomotora incapacitante como parálisis cerebral, espina bífida u otras lesiones. El grupo control se seleccionó emparejando por sexo y edad con el grupo test.

A la hora de la recogida de datos evaluamos variables demográficas como la edad, sexo y variables psicomotoras como lenguaje limitado y movilidad reducida. En cuanto a las variables clínicas, se incluyeron todos los dientes en el examen excepto los terceros molares. Las variables analizadas fueron: índice de placa, índice de dientes con caries, ausentes y obturados (CAOD), tinciones, maloclusiones y empleo de aparatología.

Para analizar la normalidad de la distribución de los datos se usó el test de Shapiro-Wilk. Para el análisis de las variables continuas se utilizó el test t no pareado, y la prueba chi cuadrado y el estadístico de Fisher para los datos categóricos. Todos los datos se analizaron con el software SPSS ® Statistics 20 (IBM Corporation, Armonk, Nueva York, EEUU) a dos colas y con un nivel de significación de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Descripción de la muestra.

Grupo test: La edad media (desviación estándar) de los pacientes en el grupo test fue de 13,96 (3,42). En cuanto a la distribución por sexos, encontramos 10 mujeres y 15 hombres. Del número total de pacientes, 7 (28%) sujetos presentaban lenguaje limitado lo que restringía la comunicación, pero no la impedía; y 5 pacientes (20%) presentaban movilidad limitada en alguna extremidad.

Grupo control: La edad media de los pacientes en el grupo control era de 14,04 (3,57). En cuanto a la distribución por sexos, 13 fueron mujeres y 12 varones y ninguno presentaba restricción física

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con la edad o el sexo entre grupos ($p = 0,197$ y

$p=0,384$, respectivamente), lo que indica que los grupos estaban debidamente pareados en cuanto a estas variables. Por las características psicomotoras de uno y otro grupo, encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la variable lenguaje limitado y movilidad reducida entre grupos ($p=0,004$ y $p=0,018$, respectivamente)

3.2. Variables clínicas

A la hora de realizar el examen intraoral, a 2 pacientes del grupo test no se les pudo completar la exploración porque fue imposible obtener su colaboración.

Índice de placa (tabla 1): En el grupo test se observó una media del índice de placa de 51 (31,9) y en el grupo control se observó una media del índice de placa de 41,70 (27,53). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto al índice de placa ($p=0,284$).

Índice de caries (tabla 1): En el grupo test se observó una media de índice de CAOD de 3,52 (3,39) presentando una media de caries de 1,52 (2,25), una media de dientes ausentes de 1,26(2,22) y una media de dientes obturados de 0,74 (1,48). Además, este gru-

Tabla 1. Comparación de la media (DE) del número del índice de placa e índice CAOD.

	Grupo test (n=23)	Grupo control (n=25)	Diferencia de medias	IC Límite inferior	(95%) Límite superior	P
Índice de placa: media (DE)	51 (31,9)	41,7 (27,53)	9,29	-26,57	7,97	0,284
Caries: media (DE)	1,52 (2,25)	0,76 (1,71)	0,76	-1,93	0,41	0,198
Ausentes: media (DE)	1,26 (2,22)	0 (0)	1,26	-2,22	-0,30	0,012
Obturados: media (DE)	0,74 (1,48)	1,12 (1,26)	-0,38	-0,42	1,18	0,346
CAOD: media (DE)	3,52 (3,39)	1,88 (2,31)	1,64	-3,31	0,03	0,055
Índice restauración: media (DE)	17,24 (36,82)	46,73 (45,50)	-28,48	5,50	53,46	0,017

n= Tamaño muestral. DE= Desviación estándar. IC= Intervalo de confianza

po presentaba una media de índice de restauración (IR) de 17,24 (36,82).

En el grupo control, se observó una media de índice de CAOD de 1,88 (2,31) presentando una media de caries de 0,76 (1,71) y una media de dientes obturados de 1,12 (1,26). Estos sujetos presentaban una media de IR de 46,73 (45,50) y no presentaban ninguna ausencia dentaria.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el número de dientes ausentes ($p=0,012$) y en el IR ($p=0,017$) entre ambos grupos, pero no se observaron diferencias estadísticamente significativas ni en el número de dientes con caries ($p=0,198$), ni obturados ($p=0,346$), ni en la media del índice de CAOD ($p=0,055$), aunque este último índice tendía a la significación.

Tinción (tabla 2): El 30,4% de los pacientes plurideficientes (7 sujetos) presentaban tinciones en el esmalte sobre todo a nivel del grupo de dientes anteriores por vestibular. Observamos una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo test y control ($p=0,002$), ya que ninguno de los pacientes del grupo control presentaba tinciones.

Maloclusión (tabla 2): En el grupo test, el 73,9% de los pacientes (17 sujetos) presentaba algún tipo de maloclusión, mientras que en el grupo control sólo el 28% de los pacientes (7 sujetos) presentaba algún tipo de maloclusión. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos en cuanto a la presencia de maloclusión ($p=0,001$). En cuanto al tipo de maloclusión, la mordida cruzada fue la de mayor prevalencia en un total

Tabla 2. Comparación del número de sujetos y porcentaje entre grupo test y control en relación a las variables tinción, maloclusión y aparatología.

	Grupo test (n=23)	Grupo control (n=25)	Total (n=48)	<i>p</i>
Tinción: n (%)	7 (30,4)	0 (0)	7 (14,6)	0,002
Maloclusión: n (%)	17 (73,9)	7 (28)	24 (50)	0,001
Aparatología: n (%)	0 (0)	2 (8)	2 (4,16)	0,165
n= número de sujetos				

de 7 sujetos (14,58% del total) del total de pacientes entre ambos grupos.

Aparatología (tabla 2): Ninguno de los pacientes discapacitados usaba prótesis ni aparatos ortodóncicos. En cambio, en el grupo control se observó que 2 pacientes se encontraban en tratamiento de ortodoncia, por lo que, encontramos una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p=0,165$).

4. DISCUSIÓN

Se han realizado estudios (Pini *et al.*, 2016; Blanco *et al.*, 2016) que evalúan la higiene oral tanto en niños discapacitados como sin discapacidad, y a la hora de compararlo con nuestros datos, se observan índices de placa muy similares de 55,3% y 35% respectivamente. Esto demuestra que nuestros pacientes se encuentran en la media respecto al índice de placa.

En la última encuesta de salud oral de la Comunidad de Madrid (Gerencia asistencial CdM, 2017) se recogen datos sobre niños de 6 a 15 años. En cuanto a los dientes con caries, se observa una media de 0,47 en ausencias dentarias se observan una media de 0,01 y en dientes con obturaciones una media de 0,445. Estos datos, son ligeramente inferiores a los recogidos en el grupo control de nuestro estudio, probablemente debido a la variabilidad demográfica y al tamaño muestral; por lo tanto, nuestros datos acerca del grupo control se encuentran por encima de la media.

En el estudio de Cabrita JP *et al.*, del 2017 se estudió la prevalencia de maloclusiones comparándolo entre ambos grupos. Ellos observaron que tan sólo el 25% de los pacientes con discapacidad no presentaban maloclusión, tal y como se observa en nuestro estudio, sin embargo, en su estudio la clase II de Angle tenía la mayor prevalencia.

Los valores similares en cuanto al índice de placa entre el grupo con y sin discapacidad probablemente se deba en su mayoría al empleo de un cuidador. Esto se demuestra en el estudio de Costa *et al.*, 2016, en el que se estudiaban pacientes con diferentes grados de discapacidad y se observaba que aquellos con enfermedades más severas, poseían mejor higiene oral debido a la supervisión de un cuidador.

Nuestro estudio, presenta una serie de limitaciones entre las que destacan el gran número de observadores en el grupo test, el empleo de luz natural para la exploración y un tamaño muestral pequeño.

5. CONCLUSIÓN

El empleo de un cuidador supervisando la higiene oral de los pacientes discapacitados, permite una mejora en la eliminación de placa en este tipo de paciente, lo que se demuestra al no observar diferencias estadísticamente significativas frente a pacientes sin discapacidad en relación al índice de placa, índice CAOD, caries y dientes obturados. Aun así, aquellas variables dependientes de la enfermedad y la medicación tales como la tinción, maloclusiones o dientes ausentes sí que presentan diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

BIBLIOGRAFÍA

- Blanco, M., Pérez-Ríos, M., Santiago-Pérez, M.I., and Smyth, E. 2016. Oral health and hygiene status in galician schoolchildren. *Anales de Pediatría* (Barcelona). 85(4):204-209. doi: 10.1016/j.anpedi.2015.04.010. Epub 2015 May 29.
- Cabrita, J.P., Bizarra, M.F., Graça, S.R. 2017. Prevalence of malocclusion in individuals with and without intellectual disability: A comparative study. *Special Care Dentistry*. 37(4):181-186. doi: 10.1111/scd.12224. Epub 2017 Jun 9.
- Costa, A.A., Della Bona, Á., Trentin, M.S. Braz Dent, J. 2016. Influence of Different Intellectual Disability Levels on Caries and Periodontal Disease. *Brazilian Dental Journal*. 27(1): 52-5. doi: 10.1590/0103-6440201600420.
- Gerencia asistencial de atención primaria de Madrid. 2017. *Estado de salud bucodental en la Comunidad de Madrid 2015/2016*. 3ª ed. Madrid.
- Pini DM, Fröhlich PC, Rigo L. Einstein (Sao Paulo). 2016 Oral health evaluation in special needs individuals. *Einstein* (Sao Paulo) 14(4):501-507. doi: 10.1590/S1679-45082016AO3712.
- Sáez U, Castejón I, Molina A, Roncero M, Martínez MA. 2010. Salud Bucodental de los pacientes internados en el Centro de Atención a Discapacitados Psíquicos de Albacete. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 3(1): 23-26.
- WHO. (2011) *Informe mundial sobre la salud*. Malta <http://www.who.int/disabilities/world_report/2011/summary_es.pdf> [Consulta: 20-febrero-2018]

Adaptación y bienestar en prisión: una revisión a la literatura y una propuesta de intervención

Adaptation and well-being in prison: A review of the literature and an intervention proposal

CARMEN ELISA SALAZAR CRUZ Y PAULA ANDREA VARGAS TORO

Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid.

Tutor: Juan Ramos-Cejudo

csalaz01@ucm.es

Resumen:

El internamiento en prisión está asociado a consecuencias psicológicas, somáticas y sociales que pueden llegar a generar un alto nivel de estrés percibido e interferencia en la calidad de vida de dicha población, llegando a ser 3 veces mayor que en la población general (Altamirano, 2013). Dicha vulnerabilidad experimentada en régimen de internamiento se relaciona con un peor ajuste psicológico y malestar emocional. El bienestar psicológico puede operar como moderador en todos los procesos de estrés crónico y desgaste en prisión. El objetivo de este trabajo es revisar la literatura acerca de la eficacia de los programas de intervención hasta la fecha en las principales bases de datos (i.e., Pubmed, PsycARTICLES, Dialnet, PsycINFO y PsycNET), así como el planteamiento de un programa de intervención piloto que promueva la adaptación en el proceso de internamiento. Nuestros resultados, así como los hallazgos encontrados en la literatura, nos permitirán mejorar las intervenciones en la adaptación al contexto penitenciario, contribuyendo así a una menor reincidencia y a la mejora del ajuste psicológico.

Palabras clave: adaptación, prisión, delincuencia, estrés, bienestar.

Abstract: Imprisonment is associated with psychological, somatic and social consequences that can reach a high level of perceived stress and interference in the quality of life of the inmates, reaching 3 times higher than in the general population (Altamirano, 2013). The vulnerability experienced in the internment regime is related to a worse psychological adjustment and emotional distress. Psychological well-being can operate

as a moderator in all processes of chronic stress and the prison wear-down effect. The aim of this paper is to review the literature about the effectiveness of intervention programs to date in the main databases (i.e., Pubmed, PsycARTICLES, Dialnet, PsycINFO y PsycNET), as well as the design of a pilot intervention program that promotes adaptation in the internment process. Our results, as well as the findings found in the literature, help us to improve the interventions in the adaptation to the prison context, contributing to a minimize recidivism and to the improvement of the psychological adjustment of the inmates in prison.

Keywords: adaptation, prison, delinquency, stress, well-being.

1. INTRODUCCIÓN

Nuestro código penal, así como la condición de internamiento, se estructura en la rehabilitación, reeducación y reinserción social basado en la prevención. La finalidad principal del sistema penitenciario, por tanto, es velar por las normas y las leyes sociales que protegen a los presos (Altamirano, 2013).

Según datos del Ministerio del Interior (2017) el número de internos en el ámbito penitenciario es de 59.703, siendo estos fundamentalmente varones. Según el SGIP los delitos cometidos en el año 2017 han sido principalmente contra el patrimonio y el orden socioeconómico, mientras que según el Instituto Nacional de Estadística (INE) en el 2016 se cometieron mayoritariamente delitos contra la seguridad vial, hurtos y lesiones.

La población reclusa es considerada un colectivo de riesgo debido a los eventos vitales y sucesos traumáticos sufridos antes de entrar en prisión, donde se destacan como consecuencias principales los problemas de salud mental, el estrés postraumático o las conductas violentas o desadaptativas (Altamirano, 2013). Por ejemplo, en el estudio PRECA (Vicens *et al.*, 2009) apunta a que del 84.4% de los varones internos presentan un trastorno mental, y el 41.2% lo presenta en el último mes de ingreso. En cuanto al consumo de drogas, Caravaca-Sánchez y Romero (2015) indican que del 68.9% de personas internas que las consumen, el 24.3% no habían consumido hasta iniciada la condena. Estos datos muestran la complejidad de la adaptación a prisión de las personas recién ingresadas.

Es por esto que debemos tener en cuenta, tanto los factores previos al ingreso, como las consecuencias del mismo. En general, el concepto de adaptación está altamente relacionado con el concepto de normalidad, de tal forma que, para considerar si una

conducta es adaptativa o desadaptativa, hay que tomar como referencia a un grupo normativo. Por lo tanto, el grupo normativo del observador puede ser muy diferente del grupo de referencia de la persona que realiza la conducta. Para intervenir sobre la conducta delictiva o desadaptada se debería tener en cuenta el importante papel del ambiente donde ésta surge y se desarrolla, y no sólo el papel del propio sujeto. Valverde (1991, pp. 118-124) hace referencia a la adaptación en prisión como el proceso de *prisionización*, y lo define como el proceso mediante el cual “la persona que ingresa en prisión vive cambios en sus cogniciones y emociones, en la salud mental y física, en la sexualidad y en sus pautas de conducta como reacción adaptativa a las exigencias del ambiente penitenciario, entre ellas, la asunción de la cultura carcelaria.”

La población interna puede llegar a presentar daños irreversibles en su salud mental y en su organismo (ver una revisión en Altamirano, 2013). Estos daños se relacionan con altos niveles de estrés percibido y una mayor interferencia en la calidad de vida de esta población. Dicha vulnerabilidad obstaculiza el desarrollo de una adaptación óptima a este contexto, provocando un desajuste tanto en el bienestar psicológico y en las expectativas a futuro (Valverde, 1991) como en la relación con la sociedad. Según Valverde (1991), en el régimen penitenciario prevalecen más las relaciones de dominio-sumisión que otro tipo de relaciones que favorezcan el ajuste psicológico a dicho contexto. Podemos entender el ingreso como estresor, y que las reacciones emocionales y conductuales del interno pueden agravar el problema. Entendemos por estrés todo proceso de cambio significativo que depende de las demandas ambientales y los recursos de afrontamiento de los individuos (Lazarus y Folkman, 1996). Por tanto, el ingreso en prisión se entiende como un acontecimiento vital estresante, ya que según estudios clásicos (Jones, 1976) las personas reclusas experimentan estrés 3.6 veces más que la población en general. Otros estudios han encontrado que en las primeras semanas tras el ingreso a prisión incrementan los intentos de suicidio (Liebling, 1992) y de conductas hetero y autolesivas (Kirchner y Mohino 2003). Modelos más recientes (Altamirano, 2013), apuntan que el bienestar psicológico puede operar como moderador en todos los procesos de estrés crónico y desgaste en prisión. La autora defiende que cuando existan óptimos niveles de funcionamiento psicológico se reduciría el efecto del estrés sobre el desajuste mental y emocional, y disminuiría también la sintoma-

tología psicopatológica que puede derivar de dicho desgaste, así como la aparición de conductas desadaptadas. Altamirano (2013) clasifica las demandas o estresores relacionados con dichos desajustes psicológicos en: 1) Estresores o variables penales-penitenciarias (i.e., ser preventivo, ser primario, tipo de delito), 2) Eventos traumáticos pasados o presentes, 3) Molestias que se producen en el contexto penitenciario, 4) Nivel de estrés percibido. Por otro lado, los recursos los define como factores de protección frente a situaciones estresantes, y los divide en dos tipos: los recursos externos (el apoyo social y los recursos penitenciarios, como pueden ser el trabajo remunerado, la escuela, la formación profesional, el ocio, el deporte, los programas específicos, etc.) y los recursos internos (estrategias de afrontamiento, creencias sobre el mundo y recursos psicológicos).

Redondo (2010) propone que todo tratamiento con delinquentes debería basarse en el *principio de triangulación* utilizando tres medidas de eficacia distintas, y no sólo la reincidencia como único indicador, puesto que, la reincidencia se basa mayoritariamente en los fracasos de integración social que sobre los posibles éxitos. El autor muestra en sus investigaciones que es más efectivo crear programas estructurados y directivos a la hora de trabajar con delinquentes. Propone, también, que estos deberían de tener una larga duración de aplicación, una alta intensidad y una mayor integridad en la administración de todos y cada uno de los factores que los componen.

El propósito del presente trabajo es llevar a cabo una revisión de la literatura de los factores asociados con el estrés en la prisionización y de los programas de intervención en este ámbito, así como la propuesta de un programa piloto que promueva la adaptación en el proceso de internamiento, fomentando el desarrollo de estrategias que permitan reducir los efectos nocivos de la prisionización, y promoviendo los recursos internos que potencian el grado de bienestar en el ámbito penitenciario.

2. MÉTODO

Hemos llevado a cabo una revisión bibliográfica de las principales fuentes y bases de datos psicológicas: Pubmed, PsycARTICLES, Dialnet, PsycINFO y PsycNET, utilizando los términos *adaptación, prisión, estrés y bienestar*. La búsqueda ha sido realizada

tanto en castellano como en inglés desde el año 1947 hasta el año 2018. Se ha incidido fundamentalmente en artículos basados en la intervención en el proceso de internamiento.

El objetivo de este programa no es directamente reducir la reincidencia de las personas penadas, sino que ellas se puedan adaptar al proceso de ingreso, por lo que hemos realizado una propuesta de un programa de intervención piloto sobre la adaptación a prisión basado en la reducción de los efectos nocivos experimentados en este contexto, y en el entrenamiento de habilidades que fomenten los recursos personales de dicha población.

3. RESULTADOS

Según la revisión bibliográfica hemos encontrado distintas clasificaciones de los factores asociados con el estrés en prisión, sin embargo, todos ellos se engloban en cuatro tipos que propone Altamirano (2013) en su modelo: estresores o variables penales-penitenciarias (i.e., ser preventivo, ser primario, tipo de delito), eventos traumáticos pasados o presentes, molestias que se producen en el contexto penitenciario y nivel de estrés percibido.

En base a los programas de intervención que se llevan a cabo en el régimen penitenciario, encontramos que estos están principalmente dirigidos a la disminución de la tasa de reincidencia y a la integración a prisión de grupos en riesgo (Enosh, Buchbinder, Smith y Shafir, 2012; Hufft, 2004; Maschi, Viola, y Morgen, 2013; Acevedo y Bakken, 2003). Sin embargo, no encontramos programas que promuevan una mejor adaptación al proceso de internamiento, aunque los resultados muestran la existencia de estudios sobre las variables que median dicho proceso (Novo, Pereira, Vázquez y Armando, 2017), instrumentos de medidas que lo evalúan (Megargee y Carbonell, 1985) y propuestas de modelos de explicación (Rodríguez Díaz, Álvarez Fresno, García Zapico, Longoria y Noriega, 2014).

Según estos hallazgos entendemos que existe una escasa intervención en la adaptación a prisión. Por ello, la propuesta de nuestro programa piloto está dividida en 6 bloques relacionados con dicha adaptación. Tres de ellos se dedican a la presentación y evaluación inicial, a la evaluación post-tratamiento, al seguimiento y a la prevención de recaídas. Los demás se centran en los recursos personales necesarios para potenciar el bienestar psicológico en prisión, y

en las causas y consecuencias del estrés en dicho contexto.

El programa está conformado por 45 sesiones, de manera que, su duración está comprendida aproximadamente entre 5 y 6 meses, con una intensidad de dos sesiones de una hora y media por semana. Las técnicas psicológicas de intervención a utilizar son: técnicas motivacionales, psicoeducación, reestructuración cognitiva, técnica de solución de problemas, técnicas de autocontrol y técnicas de estrategias de afrontamiento. Dicho programa está diseñado para una muestra de reclusos varones mayores de 18 años y de nuevo ingreso (también en el caso de presos preventivos) en centros penitenciarios de régimen cerrado (presos de segundo grado). La muestra será escogida de manera aleatorizada y con participación voluntaria. Constará de un grupo control y un grupo experimental comprendidos cada uno por 15 participantes.

El programa está dirigido principalmente a las personas internas. Sin embargo, tiene actividades orientadas a los funcionarios de la prisión y a los familiares de los reclusos, con el fin de realizar una intervención más global y completa. Con el objetivo de evaluar tanto los niveles de estrés y bienestar como los recursos personales que poseen los sujetos, y para poder medir la eficacia de nuestro programa, se han escogido los instrumentos de la tesis de Altamirano (2013).

4. CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

En los últimos años se ha empezado a crear una estructura de internamiento orientada a la rehabilitación, reeducación y reinserción social basada en la prevención. Sin embargo, los hallazgos encontrados en la literatura revelan que la intervención en dicho ámbito está centrada únicamente en la reincidencia, dejando a un lado la importancia de la intervención en el proceso de adaptación.

Para conseguir una adaptación óptima al contexto penitenciario es necesario que la intervención esté dirigida al aumento del bienestar psicológico con el objetivo de reducir el efecto del estrés sobre el desajuste mental y emocional (Altamirano, 2013).

Uno de los aspectos más importantes de la intervención con presos, y que favorece la eficacia de nuestro programa es que les entrenemos tanto en habilidades y hábitos prosociales como en la reestructuración de su pensamiento, de sus actitudes y de sus valores (Redondo, 2010). Otro aspecto que aumenta la eficacia en

nuestro programa es que sea intensivo y duradero, ya que muchas investigaciones, entre ellas la de Redondo (2010), postulan que la intervención en el ámbito de la prisión es muy compleja y requiere de más tiempo que en cualquier otro ámbito.

Redondo (2010) afirma que es necesario que se diseñen los programas de intervención en las prisiones en función de las características individuales (cultura, riesgo del delito, personalidad, integración), ya que esto permitiría determinar con más eficacia la intensidad, la duración y el contexto del programa. Por lo tanto, es imprescindible que para investigaciones futuras se cree un paradigma que nos permita generar una intervención basada en dichas características individuales y que suponga menor coste metodológico.

Para concluir, esperamos que el presente trabajo sea uno de muchos que permitan abrir el campo de la investigación e intervención sobre la adaptación en prisiones, ya que habrá muchos elementos que potenciar y otros que mejorar para alcanzar este objetivo de gran importancia, y aunque en la sociedad no está reconocido en su totalidad, la intervención en la adaptación contribuye como último fin a la reinserción social (Redondo, 2010).

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, K. & Bakken, T. 2003. Women Adjusting to Prison. *Journal Of Health & Social Policy*. 17(4): 37-60.
- Altamirano, Z. 2013. *El bienestar psicológico en prisión: antecedentes y consecuencias*. Madrid. Universidad Autónoma de Madrid (tesis doctoral). Madrid.
- Caravaca-Cánchez, F., Romero, M. F., y Luna, A. 2015. Prevalencia y predictores del consumo de sustancias psicoactivas entre varones en prisión. *Gac sanit*. 29(5): 358-363.
- Díaz, D., Rodríguez-Carvajal, R., Blanco, a., Moreno-Jimenez, B., Gallardo, I., Valle, C., y Dierendonck, D. V. 2006. Adaptación Española de las escalas de Bienestar Psicológico de RYFF. *Psicothema*. 18(3): 572-577.
- Enosh, G., Buchbinder, E., Smith, L. & Shafir, O. 2012. From the “Greenhouse” to Reality. *Journal Of Interpersonal Violence*. 28(5): 910-937.
- Hufft, A. 2004. Supporting Psychosocial Adaptation for the Pregnant Adolescent in Corrections. *MCN, The American Journal Of Maternal/Child Nursing*. 29(2): 122-127.
- Janoff-Bulman, R. 1989. Assumptive worlds and the stress of traumatic events: applications of the schema construct. *Social cognition*. 7 (2): 111-136
- Jones, D.A. 1976. *The health, risks and imprisonment*. Lexington, Massachus-

sets: Lexington books

- Instituto Nacional de Estadística. 2017. *Estadística de condenados: adultos / estadística de condenados: menores año 2016*. ECA y ECM.
- Kirchner, T. y Mohino, S. 2003. Estrategias de coping y conducta autole-siva en jóvenes reclusos. *revista de psiquiatra de la facultad de medicina de Barcelona*. 30(2):77-85
- Lázarus, R. S. y Folkman, S. 1984. *Stress, appraisal, and coping*. New York: Springer publishing
- Liebling, A. 1992. *Suicides en prison*. London: Routledge.
- Martínez de Serrano, B. A. 2007. Desarrollo y validación de un instru-mento para la evaluación de los recursos psicológicos: inventario de recursos psicológicos-77 ítems (irp-77). (Tesis Doctoral). Universi-dad Autónoma de Madrid, Madrid.
- Maschi, T., Viola, D. & Morgen, K. 2013. Unraveling Trauma and Stress, Coping Resources, and Mental Well-Being Among Older Adults in Prison: Empirical Evidence Linking Theory and Practice. *The Geron-tologist*. 54(5): 857-867.
- Megargee, E. I. & Carbonell, J. L. 1985. Predicting prison adjustment with MMPI correctional scales. *Journal of Consulting and Clinical Psy-chology*. 53(6): 874-883.
- Ministerio del interior. 2010. *Población reclusa*. 2017, Instituto Nacional de Estadística. recuperado de: <http://www.ine.es/jaxi/datos.htm?path=/t38/bme2/t18/a052/10/&file=0500001.px>
- Remor, E., y Carrobbles, J. A. 2001. Versión española de la escala de estrés percibido (pss-14): estudio psicométrico en una muestra VIH+. *An-siedad y estrés*. 7(2-3): 195-201.
- Redondo, S. 2010. *Manual para el tratamiento psicológico de los delincuentes*. Ma-drid: Pirámide.
- Rodríguez Díaz, F., Álvarez Fresno, E., García Zapico, F., Longoria, B., Y Noriega, M. 2014. Modelo alternativo de intervención educativa en el contexto penitenciario. Propuesta de un planteamiento desde la unidad terapéutica y educativa de Villabona. *Magister*. 26(2): 90-97.
- Valverde. V. 1991. *La cárcel y sus consecuencias: intervención sobre la conducta desadaptada*. Madrid: Popular.
- Vicens, E., Tort, V., Dueñas R. M., Muro, A., Pérez-Arnau, F., Arroyo, J. M., Acín, E. y Sardá, P. 2011. The prevalence of mental disorders in Spanish prisons. *Criminal Behaviour and Mental Health*, 21(5): 321-332.

Desarrollo de nuevas pruebas serológicas para el diagnóstico temprano de la besnoitiosis bovina

Development of novel serological techniques to early diagnose bovine besnoitiosis

BEGONIA LOURDES SALDIAS ALIAGA Y

MARÍA FERNÁNDEZ ÁLVAREZ

Facultad de Veterinaria de la UCM. Madrid. España.

Tutores: Gema Álvarez García (gemaga@vet.ucm.es) y

Carlos Diezma Díaz (cdiezma@gmail.com)

bsaldias@ucm.es, marfer23@ucm.es

Resumen: La besnoitiosis bovina, producida por el protozoo apicomplejo *Besnoitia besnoiti*, es una enfermedad crónica y debilitante del ganado vacuno que produce pérdidas económicas considerables, y está considerada como re-emergente en Europa. Desafortunadamente, no existen fármacos ni vacunas eficaces. En la actualidad, su control se basa en la combinación de un diagnóstico serológico y adecuadas medidas de manejo. A pesar de haberse desarrollado técnicas inmunoenzimáticas (enzyme-linked immuno-sorbent assay -ELISA) para detectar inmunoglobulinas del isotipo G (IgGs) con buenos valores de sensibilidad (Se) y especificidad, es necesario mejorar la Se de estas pruebas para detectar a los animales infectados durante la fase aguda, así como determinar la antigüedad de la infección.

Para solventar estas limitaciones, el objetivo de nuestro estudio fue desarrollar una prueba ELISA para la detección de inmunoglobulinas del isotipo M (IgMs) durante la fase aguda de la infección y un ELISA de avidez para estudiar la cinética de anticuerpos de baja y alta avidez, y así poder diferenciar una infección aguda de crónica. Para ello, se analizaron muestras de sueros de terneros infectados experimentalmente con *B. besnoiti* a lo largo de 70-90 días post infección (dpi). Las muestras procedían de dos experimentos independientes en los que se logró reproducir la enfermedad.

Se detectaron niveles elevados de IgMs durante la fase aguda a partir de la primera semana post infección (pi), lo que supone un diagnóstico más temprano comparado con la detección de IgGs a las 2-3 semanas pi. Por su parte, los resultados del ELISA de avidez han demostrado

que los quistes tisulares macroscópicos se desarrollan antes de que se detecten valores elevados de avidéz indicativos de una infección crónica, posiblemente relacionado con un retraso en el desarrollo de la respuesta inmune humoral. Estos resultados deberán corroborarse con sueros procedentes de animales infectados naturalmente.

Palabras clave: Besnoitiosis bovina, diagnóstico serológico, IgMs, ELISA de avidéz.

Abstract: Bovine besnoitiosis, caused by the apicomplexan parasite *Besnoitia besnoiti*, is a chronic and debilitating cattle disease that causes considerable economic losses and it is considered as a re-emerging disease in Europe. Unfortunately, there are no drugs or effective vaccines for its control. Therefore, control is based on the combination of a serological diagnosis coupled to appropriate management measures. Despite enzyme-linked immuno-sorbent assays (ELISA) have been developed to detect immunoglobulin isotype G (IgGs) with high sensitivity (Se) and specificity values, it is necessary to improve the Se of this assays to detect infected animals during the acute phase, as well as to determine the beginning of the infection.

To overcome these limitations, the aim of our study was to develop an ELISA for the detection of immunoglobulin isotype M (IgMs) during the acute phase of infection and avidity ELISA to study the kinetics of low and high avidity antibodies, and thus to be able to differentiate acute from chronic infections. Serum samples from calves experimentally infected with *B. besnoiti* were analyzed over 70-90 days post infection (dpi). The samples came from two independent experiments where the disease was reproduced.

High IgMs levels were detected during the acute phase from the first week post infection (pi), providing an early diagnosis compared to IgGs detection at 2-3 weeks pi. Moreover, the avidity ELISA results have shown that macroscopic tissue cysts develop before high avidity values (indicative of a chronic infection) are detected, possibly related to a delay in the development of the humoral immune response. These results will be corroborated with sera from naturally infected animals.

Keywords: bovine besnoitiosis, serological diagnosis, IgMs, avidity ELISA.

1. INTRODUCCIÓN

Besnoitia besnoiti es un protozoo apicomplejo responsable de la besnoitiosis bovina, enfermedad crónica y debilitante del ganado vacuno. En 2010, esta enfermedad fue considerada re-emergente en Europa según la EFSA (European Food Safety Authority). Actualmente, no existen fármacos ni vacunas eficaces, por tanto, un diagnóstico serológico precoz y medidas de manejo adecuadas son cruciales en el control de la misma.

Se considera que el ciclo biológico de *B. besnoiti* es heteroxeno facultativo. El ganado bovino actuaría como hospedador interme-

diario. En ellos, dos estadios asexuales del parásito han sido descritos: taquizoíta (multiplicación rápida) y el bradizoíta (replicación lenta) responsables de la fase aguda y crónica de la enfermedad, respectivamente. La fase aguda caracterizada por signos clínicos inespecíficos, edemas y orquitis. Lesiones en piel (alopecia e hiperqueratosis), esterilidad en los machos y presencia de quistes en vestíbulo vaginal y conjuntiva ocular son signos característicos de fase crónica (Álvarez-García *et al.*, 2013).

Desafortunadamente, no existen fármacos comercializados ni vacunas que puedan emplearse en el control de la enfermedad. El diagnóstico se basa en la inspección clínica combinada con un análisis serológico, ya que la mayoría de los animales infectados actúan como portadores del parásito (asintomáticos con niveles detectables de anticuerpos). La técnica serológica más empleada en el diagnóstico es el ELISA para la detección de IgGs. Durante la fase aguda de la enfermedad el ELISA no permiten detectar a los animales infectados, ya que éstos no seroconvierten hasta a las tres semanas pi. Solo se puede emplear PCR para detectar al parásito en los tejidos diana post-mortem.

Con el objetivo de desarrollar un modelo bovino de infección experimental en el que pueda valorarse futuros candidatos terapéuticos y/o vacunales, recientemente, se han desarrollado en terneros dos modelos de infección experimental (Diezma-Díaz *et al.*, 2017b; *unpublished*). En el primer ensayo (A), se inocularon intravenosamente tres dosis diferentes de taquizoítos (10^8 , 10^7 , 10^6). Se logró reproducir la infección subclínica donde los animales no desarrollaron signos clínicos de fase crónica pero seroconvirtieron, detectándose parásito en sus tejidos. En un segundo ensayo (B), se inocularon 10^6 bradizoítos por vía intravenosa, subcutánea e intradérmica. En este caso se desarrolló fase aguda de la enfermedad y signos clínicos de fase crónica (quistes tisulares y lesiones en piel), los cuales se observaron, principalmente, en el grupo inoculado por vía intradérmica a partir del día 43 pi.

En base a esto, el objetivo de nuestro estudio fue desarrollar dos técnicas serológicas, una prueba ELISA para la detección IgMs durante la fase aguda de la infección y una prueba ELISA de avidez para estudiar la cinética de anticuerpos de baja y alta avidez, de manera que permitan diferenciar una infección aguda de crónica. Para ello, se empleó el panel de sueros recogidos durante las infecciones experimentales A y B.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Diseño experimental y muestras obtenidas.

Se analizaron muestras de suero de terneros infectados experimentalmente a lo largo de 70-90 dpi. Las muestras se obtuvieron de dos experimentos independientes en los que se logró reproducir la enfermedad. Se inocularon terneros frisones machos de 3 meses de edad con buen estado de salud y libres de patógenos bovinos relevantes. Signos clínicos compatibles de fase aguda y crónica fueron monitorizados exhaustivamente en los animales y la toma de muestras se realizó tal y como indica la figura 1.

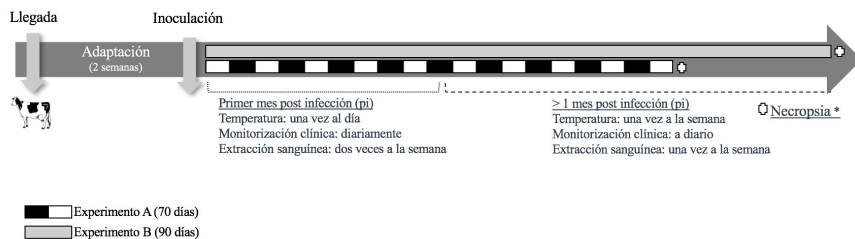


Figura 1. Cronograma, monitorización clínica y recogida de muestras (Experimentos A y B).

En el experimento A, los animales fueron inoculados por vía intravenosa con tres dosis diferentes de taquizoítos ($G_{1A} = 10^8$, $G_{2A} = 10^7$ y $G_{3A} = 10^6$, tres animales/grupo) más un grupo testigo negativo inoculado con PBS. En B, los animales fueron inoculados con 10^6 bradizoítos por tres rutas de inoculación diferentes ($G_{1B} =$ intravenosa, $G_{2B} =$ subcutánea, $G_{3B} =$ intradérmica, $G_{4B} =$ testigo negativo; tres animales/grupo).

2.2. Detección de IgMs mediante la prueba ELISA

Los niveles de IgMs frente a *B. besnoiti* fueron determinados en suero mediante la prueba Bb-SALUVET ELISA 2.0. descrita por García-Lunar *et al.* (2017) con ligeras modificaciones: i) el conjugado fue un anticuerpo anti IgM bovino (Bethyl ®) con peroxidasa (1/10000; ii) el suero testigo positivo empleado se obtuvo

de una mezcla de sueros procedentes del G_{1A} a los 4 dpi. El suero testigo negativo procedía de una mezcla de sueros del grupo G_{4A}. Tras añadir el sustrato ABTS[®](Roche) e incubar, se añadió la solución de parada y se midió la densidad óptica (DO) de la reacción colorimétrica a longitud de onda de 405 nm (Multiscan RC[®] 6.0). Los valores de DO se convirtieron a un índice relativo por ciento (IRPC) según García-Lunar *et al.*, (2017).

2.3. ELISA de avidez

El índice de avidez (IA) de las IgGs totales anti-*B. besnoiti* fue determinado en los sueros que presentaron un valor de IRPC superior a 17.34 por la prueba Bb-SALUVET ELISA 2.0. Este ELISA es una adaptación de la prueba Bb-SALUVET ELISA 2.0. (Diezma-Díaz *et al.*, 2017a). Los sueros se analizaron por duplicado y en uno de los pocillos se incluyó una incubación de 10 min con urea 6M (Panreac). Tras tres lavados, se realizó una incubación con un anticuerpo secundario monoclonal anti-IgG bovina marcado con peroxidasa (1/12000; Thermo Fisher Scientific). Los sueros testigos (alta y baja avidez) procedían de animales infectados naturalmente. Para la determinación del IA se compararon las DOs de cada suero con y sin urea aplicando las operaciones matemáticas descritas por Jenum *et al.* (1997). El punto de corte se estableció en 50.8 (Schaes *et al.*, 2013).

2.4. Análisis estadístico de los datos

Las diferencias en los niveles de IgM y en los valores de IAs observados entre los diferentes grupos y a lo largo del tiempo serán analizadas estadísticamente mediante una prueba ANOVA de dos vías de medidas repetidas con la prueba a posteriori test-Tukey ($p < 0.05$.; software GraphPad Prism 6.01). Estos análisis estadísticos serán presentados en el congreso.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se muestra en la Figura 2A, se observó un aumento de los niveles de IgMs en el exp. A a los 7 días pi en todos los grupos infectados con respecto al grupo testigo negativo, obteniéndose los valores más elevados a día 10 pi en el G_{1A} y a los 14 dpi en G_{2A} y G_{3A}. A partir de entonces, IgMs descendieron hasta el final del en-

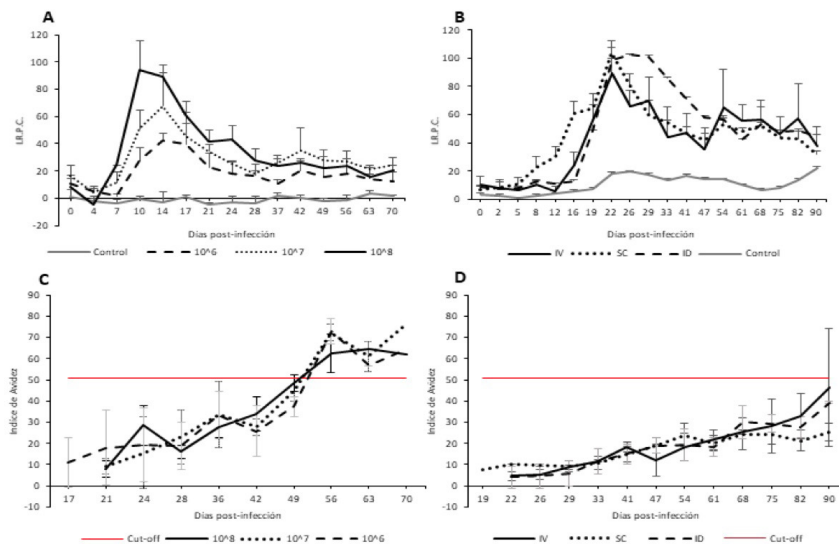


Figura 2. Cinética de los niveles de IgMs e IA en suero: Media (+DS) de los niveles de IgMs (A) e IAs (C) en ensayo A. Media (+DS) de los niveles de IgMs (B) e IAs (D) en B. Cut-off: Límite establecido entre baja y alta avidéz (línea roja).

sayo. Los animales inoculados con una mayor dosis presentaron los mayores niveles de IgMs. En este ensayo, niveles elevados de IgG empezaron a detectarse en torno a los 17 dpi. Éstos fueron significativamente más elevados en el grupo inoculado con la dosis más alta con respecto a los otros dos grupos infectados desde 24 dpi en adelante. En B (Fig. 2B), se observó un incremento en los niveles de IgMs en torno a los 8 dpi en el G_{2B} y a los 12 y 16 dpi en G_{1B} y G_{3B} , respectivamente. Un valor máximo en los tres grupos se alcanzó a los 22 dpi, a partir de entonces dichos niveles fueron disminuyendo paulatinamente pero, manteniéndose más elevados que en el exp. A. En B, observamos aumento de los valores de IgG en torno a los 19 dpi, sin observar diferencias significativas entre grupos. A la vista de nuestros resultados, se confirmó que las IgMs pueden detectarse más tempranamente que IgGs. En un futuro habrá que determinar si los niveles de IgMs persisten en el tiempo, pues en caso contrario su detección sería indicativa de una fase aguda, tal y como se ha comprobado en el diagnóstico de las infecciones por

Toxoplasma gondii, parásito perteneciente a la misma familia que *B. besnoiti* (Dard *et al.*, 2016).

En cuanto a los IA, en A se detectaron valores de baja avidéz hasta el día 49 pi en todos los grupos infectados y, posteriormente, hasta el final del experimento valores de alta avidéz (Fig. 2C). Por el contrario, en el experimento B (Fig. 2D) se detectaron valores de baja avidéz hasta el final, a pesar de mostrar los animales signos característicos de fase crónica (quistes en conjuntiva ocular) a partir del día 43 pi. Por tanto, en base a nuestros resultados, los IA bajos coexisten con signos clínicos de fase crónica. La avidéz está basada en el grado de maduración de la respuesta inmune que desarrolla el hospedador frente al patógeno conforme evoluciona la infección a lo largo del tiempo. Por tanto, esta maduración, parece ser más lenta que el desarrollo de signos clínicos de fase crónica (Schaes *et al.*, 2013).

4. CONCLUSIONES

A partir de la primera semana pi se puede detectar un aumento de los niveles de IgMs, lo que supone un diagnóstico más temprano en comparación con la detección de IgGs en torno a 2-3 semanas pi. Por otra parte, los resultados del ELISA de avidéz han demostrado resultados variables en función del inóculo empleado en las infecciones experimentales. En el experimento B, posiblemente, debido a un retraso en la maduración de la respuesta inmune humoral, los quistes tisulares macroscópicos se desarrollarían antes de que empezaran a detectarse índices altos de avidéz asociados a una infección crónica. No obstante, estos resultados deberán corroborarse con sueros procedentes de animales infectados naturalmente.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado gracias a un proyecto del Ministerio de Economía y Competitividad (Ref. AGL2013-46442R). Carlos Diezma Díaz es beneficiario de un contrato predoctoral del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (Ref. BES-2014-069839).

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez-García G., Frey C.F., Ortega-Mora L.M., Schares G. 2013. A century of bovine besnoitiosis: an unknown disease re-emerging in Europe. *Trends in Parasitology*. 29(8):407-415.
- Dard C., Fricker-Hidalgo H., Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. 2016. Relevance of and New Developments in Serology for Toxoplasmosis. *Trends Parasitology*. 32(6):492-506.
- Diezma-Díaz C., Jiménez-Meléndez A., Fernández M., Gutiérrez-Expósito D., García-Lunar P., Ortega-Mora L.M., Pérez-Salas J.A., Blanco-Murcia J., Ferre I., Álvarez-García G. 2017a. Bovine chronic besnoitiosis in a calf: Characterization of a novel *B. besnoiti* isolate from an unusual case report. *Veterinary Parasitology*. 247:10-18.
- Diezma-Díaz C. 2017b. *Development of the first in vivo bovine experimental model of chronic besnoitiosis*. 4th International Meeting on Apicomplexa in Farm Animals. Madrid, Spain.
- Diezma-Díaz C. *Unpublished*. Model of subclinical bovine besnoitiosis: experimental infection with *Besnoitia besnoiti* tachyzoites in calves and bulls.
- Fernández-García A., Álvarez-García G., Risco-Castillo V., Aguado-Martínez A., Marcen J.M., Rojo-Montejo S., Castillo J.A., Ortega-Mora L.M. 2010. Development and use of an indirect ELISA in an outbreak of bovine besnoitiosis in Spain. *Vet. Rec.* 166 (26), 818–822.
- García-Lunar P., Ortega-Mora L.M., Schares G., Diezma-Díaz C., Álvarez-García G. 2017. A new lyophilized tachyzoite based ELISA to diagnose *Besnoitia* spp. infection in bovids and wild ruminants improves specificity. *Veterinary Parasitology*. 244:176-182.
- Jenum P.A., Stray-Pedersen B., Gundersen A.G.. 1997. Improved diagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by determination of antitoxoplasma immunoglobulin G avidity. *J. Clin. Microbiol.* 35, 1972-1977.
- Schares G., Langenmayer M.C., Scharr J.C., Minke L., Maksimov P., Maksimov A., Schares S., Bärwald A., Basso W., Dubey J.P., Conraths FJ., Gollnick N.S. 2013. Novel tools for the diagnosis and differentiation of acute and chronic bovine besnoitiosis. *International Journal for Parasitology*. 43(2):143-154.

Búsqueda de biomarcadores de daño asociado al consumo de alcohol

Looking for biomarkers of alcohol-related damage

DIEGO SAN FELIPE RIBA^{1,2}, ANDREA GARCÍA-MORIÑIGO^{1,2},
MARÍA ANTÓN³, LAURA ORIO³ Y
FERNANDO RODRÍGUEZ DE FONSECA³.

1. Dpto. Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas; 2. Dpto. Fisiología, Facultad de Medicina; 3. Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid (UCM).

Tutoras: Eva M. Marco¹ y Meritxell López-Gallardo².
diesanfe@ucm.es

Resumen: El trastorno por consumo de alcohol (*Alcohol Use Disorder*, AUD) es una enfermedad neuropsiquiátrica que se caracteriza por el consumo excesivo de alcohol y que ha sido relacionada con diversos procesos neuroinflamatorios así como con un marcado daño hepático. En el presente estudio hemos trabajado con muestras de plasma procedentes de 70 personas diagnosticadas de AUD, 24 mujeres y 46 hombres; y 52 controles, 39 mujeres y 17 hombres. En estas muestras hemos analizado los niveles circulantes de lipopolisacárido (LPS), y HMGB1 (*High Mobility Group Box 1*), como marcadores de daño, así como niveles de interleuquina-17 (IL-17) y transaminasas como posibles marcadores de daño hepático. Nuestros resultados indican que el consumo de alcohol provoca un aumento en los niveles plasmáticos de HMGB1 así como en los niveles de LPS, aunque el efecto en estos últimos sólo se observa entre las mujeres. Hasta el momento solo hemos obtenido datos preliminares en relación a los niveles de IL-17 y transaminasas, que parecen estar incrementados, aunque será necesario incorporar datos de nuestra población de control, así como incluir las valoraciones de los niveles circulantes de CCL20 con el fin de determinar el daño hepático asociado, así como su relación con el incremento encontrado en estos marcadores de daño. Estos datos, nos han permitido ampliar nuestro conocimiento sobre trastornos del consumo de

alcohol abriendo nuevas perspectivas en la búsqueda de biomarcadores circulantes de daño asociado al consumo de alcohol.

Palabras clave: LPS, HMGB1, Citoquinas, Alcoholismo, Inflamación.

Abstract: Alcohol Use Disorder (AUD) is a neuropsychiatric disease that is characterized by excessive alcohol consumption and has been linked to various neuroinflammatory processes as well as marked liver damage. In the present study we have worked with plasma samples from 70 people diagnosed with AUD, 24 women and 46 men; and 52 controls, 39 women and 17 men. In these samples we analyzed the circulating levels of lipopolysaccharide (LPS), and HMGB1 (High Mobility Group Box 1), as markers of alcohol-induced damage, as well as levels of interleukin-17 (IL-17) and transaminases as possible markers of liver disease. Our results indicate that alcohol consumption causes an increase in plasma levels of HMGB1 as well as in LPS levels, although the effect in the latter is only observed among women. So far we have only obtained preliminary data regarding the levels of IL-17 and transaminases, which seem to be increased. It will be necessary to include data from our control population, as well as data from CCL20 assays in order to identify the putative associated liver damage. Present data have enlarged our knowledge about alcohol consumption disorders, opening new perspectives in the search for circulating biomarkers of harm associated with alcohol consumption.

Keywords: LPS, HMGB1, Cytokines, Alcoholism, Inflammation.

1. INTRODUCCIÓN

En pacientes diagnosticados de trastorno por consumo de alcohol (*Alcohol Use Disorder*, AUD) se ha descrito un aumento de la permeabilidad intestinal (Leclercq *et al.*, 2012); este aumento en la permeabilidad permitiría la entrada de diversos microorganismos y/o compuestos de la microbiota intestinal, como el lipopolisacárido (LPS), en el torrente circulatorio. Uno de los principales problemas asociados al consumo de alcohol es el daño hepático. En el hígado, se ha visto que diversos tipos celulares liberan la quimioquina CCL20 que induce la expresión de células T_H17 , conjunto de células CD_4^+ liberadoras de Interleuquina 17 (IL-17) (Gao y Xu, 2014). IL-17 es una interleuquina proinflamatoria que estimula la secreción de varias citoquinas pro-inflamatorias, como IL-6 o el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa, del inglés Tumoral Necrosis Factor) $TNF\alpha$ (Flores García y Talamás Rohana, 2012), y que además participa en el reclutamiento de neutrófilos (González Reimers *et al.*, 2013). En el presente trabajo queremos estudiar factores relacionados con el daño asociado al consumo de alcohol en una población adulta de pacientes, hombres y mujeres, diagnosticados de AUD. Para ello, hemos analizado los niveles plasmáticos

de LPS, como marcador de ruptura de barrera intestinal, así como los niveles de HMGB1 (*High Mobility Group Box-1*) otro marcador de daño; además hemos evaluado los IL-17 y, próximamente evaluaremos los niveles de CCL20, como marcadores de patología hepática, relacionándolos además con los niveles de transaminasas, marcador clásico de daño hepático. En este estudio analizaremos además los posibles dimorfismos sexuales presentes a este nivel.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Sujetos y toma de muestras

Los sujetos del estudio fueron 70 pacientes con trastorno por consumo de alcohol (*Alcohol Use Disorder*, AUD), y 56 sujetos control (ver Tabla 1). Se tomaron muestras de sangre venosa empleando EDTA como anticoagulante; y, a continuación, se centrifugó la muestra obteniendo plasma que se mantuvo -30°C hasta la realización de los análisis. La extracción de sangre se realizó en el Hospital Regional Universitario Carlos Haya de Málaga (Málaga, España), y los análisis de las mismas se llevaron a cabo en los laboratorios del grupo de investigación en las Facultades de Medicina y Psicología de la Universidad Complutense de Madrid.

2.2. Valoración de los niveles de LPS, HMGB1 e IL-17

Para la determinación de los niveles de LPS se utilizó un kit comercial, ensayo basado en las propiedades cromogénicas del lisado de amebocitos de *Limulus* [*Limulus Amebocyte Lysate (LAL) Chromogenic Endpoint Assay*, HIT302, *Hycult Biotech*, Holanda]. Los niveles de HMGB1 se midieron mediante un kit comercial de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*; *Elabscience Biotechnology Co*). La valoración de Interleuquina 17 (IL-17) se llevó a cabo mediante un sistema de matriz de suspensión Bio-Plex 200 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, California, E.E.U.U.) asociada a un kit de inmunoensayo ProcartaPlex con esferas magnéticas y un kit de diluyente estándar de plasma apropiado (Bioscience, Affymetrix, Santa Clara, California, EE. UU.); este método de análisis se basa en la tecnología Luminex y en un panel de 7-plex de citoquinas humanas (Panel Mix & Match). En todos los casos se llevó a cabo el ensayo siguiendo las instrucciones establecidas por el proveedor.

Tabla 1. Parámetros antropomórficos de los grupos de estudio.

Parámetros	TOTAL (n=126)	CONTROLES (n=56)	AUD (n=70)	
EDAD	46,18±1,14	35,98±1,81	48,94±1,05	
IMC	24,71±0,4	23,92±0,62	25,32±0,51	
SEXO	H=63; M=63	H=17; M=39	H=46; M=24	

Parámetros	HOMBRES CONTROL (n=17)	HOMBRES AUD (n=46)	MUJERES CONTROL (n=39)	MUJERES AUD (n=24)
EDAD	38,76±3,98	47,98±1,42	34,76±1,93	50,79±1,38
IMC	25,46±1,02	25,58±0,65	23,25±0,75	24,81±0,84

Datos de la media de edad e índice de masa corporal (IMC) de los grupos analizados, separados por su condición (Controles y sujetos diagnosticados de trastorno por consumo de alcohol, Alcohol Use Disorder, AUD) y por sexo (H=Hombre, M=Mujer).

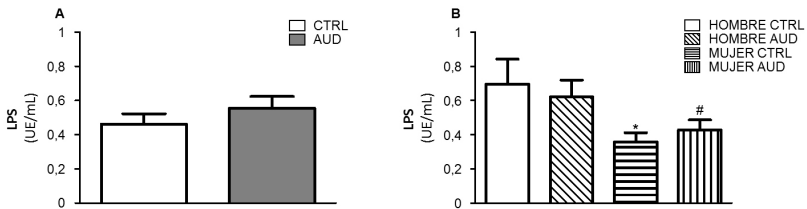


Figura 1. Niveles de lipopolisacárido (LPS) en el plasma de sujetos control (CTRL) y pacientes diagnosticados con trastorno por el consumo de alcohol (*Alcohol Use Disorder*, AUD). A. Se muestran los datos de la población completa distribuida en controles (n=52) y AUD (n=67); B. Se muestran los datos de la población separando además los datos en función del sexo, hombres [CTRL (n=16) y AUD (n=44)] y mujeres [CTRL (n=36) y AUD (n=23)]. *p<0,05 *versus* Hombre Ctrl; #p=0,062 *versus* Mujeres Ctrl.

2.3. Análisis estadístico

El diseño experimental contempla dos factores, sexo (hombres frente a mujeres) y condición (controles -CTRL- frente a pacientes diagnosticados con trastorno por consumo de alcohol, *Alcohol Use Disorder*, AUD). Los datos fueron filtrados eliminando los datos

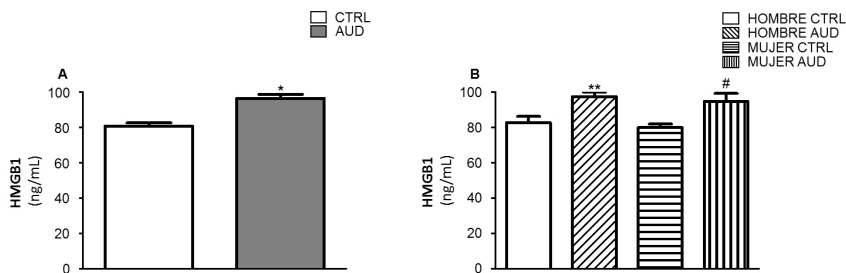


Figura 2. Niveles de High-Movility Group Box 1 (HMGB1) en el plasma de sujetos control (CTRL) y pacientes diagnosticados con trastorno por el consumo de alcohol (*Alcohol Use Disorder*, AUD). A. Se muestran los datos de la población completa distribuida en controles (n=52) y AUD (n=51); B. Se muestran los datos de la población separando además los datos en función del sexo, hombres [CTRL (n=16) y AUD (n=33)] y mujeres [CTRL (n=36) y AUD (n=18)]. *p<0,001 versus CTRL; **p=0,002 versus HOMBRES CTRL; #p=0,001 versus MUJERES CTRL.

extremos (*outliers*) que quedaban fuera del rango establecido de la media ± 2 veces la desviación estándar. Se comprobó la normalidad mediante el análisis de Kolmogorov-Smirnov y la homocedasticidad de varianzas mediante el test de Levene. Los datos fueron analizados mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas si $p < 0,05$; en caso contrario se consideró el resultado como no significativo (ns). En el caso de una interacción significativa se llevaron a cabo comparaciones múltiples mediante el test de Bonferroni. En ausencia de normalidad y/o homocedasticidad se realizaron pruebas no paramétricas mediante el test de Kruskal-Wallis seguido de comparaciones por pares mediante el test de Mann-Whitney ($p < 0,05$). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS versión 21.0 (SPSS Inc., IBM Company).

3. RESULTADOS

3.1. *Parámetros antropomórficos*

La población de estudio presenta una edad media alrededor de los 45 años, aunque los controles son algo más jóvenes que los pacientes diagnosticados con AUD; dichas poblaciones no parecen diferir en relación al Índice de masa corporal (IMC) (Tabla 1).

Tabla 2. Valores de IL-17 y transaminasas en pacientes AUD.

	HOMBRES	MUJERES
IL-17 (ng/L)	0,68±0,44 (n=7)	0,52±0,29 (n=13)
GGT (UI/L)	33,20±4,39 (n=20)	38,53±7,30 (n=17)
GOT (UI/L)	39,15±11,89 (n=20)	27,18±3,00 (n=17)
GPT (UI/L)	54,30±21,98 (n=20)	28,76±4,23 (n=17)

Se muestran las medias de interleuquina 17 (IL-17), GGT (Gamma Glutamil Transpeptidasa), GOT (Glutamato Oxalacetato Transaminasa) y GPT (Glutamato Piruvato Transaminasa); en los pacientes AUD, hombre y mujer. UI=Unidades Internacionales

3.2. Niveles de LPS en plasma

En relación a los niveles de LPS en plasma (Fig. 1) se observa una diferencia significativa entre los cuatro grupos experimentales, Kruskal-Wallis: $\chi^2(3)=10,28$; $p=0,016$; observándose en los análisis posteriores con la U de Mann-Whitney una diferencia significativa entre los grupos control, hombres frente a mujeres ($p=0,032$), y una tendencia a la significación estadística entre las mujeres control y AUD ($p=0,062$). No se observaron otras diferencias significativas entre grupos. Las mujeres muestran unos niveles menores de LPS en plasma frente a los hombres, y sólo en las mujeres el alcohol (AUD) induce un aumento en los niveles de LPS.

3.3. Niveles de HMGB1 en plasma

En relación a la concentración de HMGB1 en plasma (Fig.2), tras la realización de un ANOVA de dos vías, se aprecia un efecto significativo de la condición AUD [$F(1,99)=23,05$; $p<0,001$], en ausencia de efectos del sexo [$F(1,99)=0,79$; ns] o de la interacción entre factores [$F(1,99)=0,00$; ns]. En el ANOVA de una vía separado por sexo se verifica el efecto de la condición tanto en hombres [$F(1,47)=10,97$; $p=0,002$] como en mujeres [$F(1,52)=12,17$; $p=0,001$]. El alcohol produce un aumento en los niveles de HMGB1 en ambos grupos.

3.4. Niveles de IL-17 y transaminasas en pacientes AUD

En una primera aproximación se han analizado los niveles de IL-17 y de transaminasas, entre las cuales se encuentran GGT

(Gamma Glutamyl Transpeptidasa), GOT (Glutamato Oxalacetato Transaminasa) y GPT (Glutamato Piruvato Transaminasa). Estos datos preliminares sugieren una elevación en los niveles de transaminasas e IL-17 en nuestros pacientes, a falta de confirmar los niveles de estos marcadores en nuestros controles. Los niveles alcanzados parecen ser mayores en hombres que en mujeres, pero serán necesarios análisis adicionales para verificar el posible daño hepático, así como la magnitud de los cambios en hombres frente a mujeres.

4. DISCUSIÓN

Nuestros resultados indican que el consumo de alcohol provoca un aumento en los niveles plasmáticos de HMGB1 en plasma, y, en los niveles de LPS se observa la misma tendencia, aunque solo alcanza niveles estadísticamente significativos en el grupo de mujeres. Estos datos coinciden con resultados previos en los que los niveles de LPS y HMGB1 se encontraron aumentados en un grupo de jóvenes expuestos a consumo de alcohol tipo atracón (“binge-like”) (Orio *et al.*, 2017); en dicho estudio los efectos sobre los niveles de LPS fueron más marcados, y el aumento en los niveles de HMGB1 se observó únicamente en mujeres. Se han encontrado datos similares en un modelo animal de consumo de alcohol en adolescencia, en el que se vieron aumentados los niveles de HMGB1 en corteza frontal (Antón *et al.*, 2017). Tanto LPS como HMGB1 son ligandos del receptor TLR4 (Toll-Like Receptor 4), receptor del sistema inmune innato que ha sido extensamente implicado en los efectos tóxicos del alcohol [ver (Alfonso-Loeches y Guerri, 2011) para revisión]. Hasta el momento solo hemos obtenido datos preliminares en relación a los niveles de IL-17 y transaminasas, que parecen estar incrementados, aunque será necesario incorporar datos de nuestra población de control, así como incluir las valoraciones de los niveles circulantes de CCL20 con el fin de determinar el daño hepático asociado, así como su relación con el incremento encontrado en estos marcadores de daño.

No podemos obviar algunas limitaciones de nuestra población de estudio. A pesar de la modesta numerosidad de la misma, y del hecho de que haya el mismo número de individuos para cada condición (control y AUD), hay que destacar que hay un mayor número de mujeres control y de hombres AUD. Además, la edad

media de la población es mayor en los individuos AUD que en los controles.

En resumen, estos datos, nos han permitido ampliar nuestro conocimiento sobre trastornos del consumo de alcohol abriendo nuevas perspectivas en la búsqueda de biomarcadores circulantes de daño asociado al consumo de alcohol. Confiamos en que estos datos nos permitan desarrollar nuevas herramientas clínicas con un mayor valor diagnóstico, así como marcadores que nos permitan identificar posibles factores de riesgo y/o vulnerabilidad en los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso-Loeches, S., Guerri, C. 2011. Molecular and behavioral aspects of the actions of alcohol on the adult and developing brain. *Crit Rev Clin Lab Sci* 48:19–47 Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10408363.2011.580567>.
- Antón M., Alén, F., Gómez de Heras, R., Serrano, A., Pavón, F.J., Leza, J.C., García-Bueno, B., Rodríguez de Fonseca, F., Orio, L. 2017. Oleylethanolamide prevents neuroimmune HMGB1/TLR4/NF- κ B danger signaling in rat frontal cortex and depressive-like behavior induced by ethanol binge administration. *Addict Biol* 22:724–741 Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26857094>.
- Flores García, Y., Talamás Rohana, P. 2012. Interleuquina 17, funciones biológicas y su receptor. *REB Rev Educ bioquímica* 31:3–9.
- González Reimers, E., Martín González, C., Alvisa Negrin, J., Pérez Ramírez, A., Martín Ponce, E., Fernández Rodríguez, E., González Pérez, C.J., Santolaria Fernández, F. 2013. IL-17 en el alcoholismo. XXXIV Congreso Nacional de las Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI). XXIX Congreso de la Sociedad Andaluza de Medicina Interna (SADEMI). *Rev clínica española*, 213 (Suppl): V-190.
- Gao, B., Xu, M. 2014. Chemokines and alcoholic hepatitis: are chemokines good therapeutic targets? *Gut* 63:1683–1684.
- Leclercq, S., Cani, P.D., Neyrinck, A.M., Stärkel, P., Jamar, F., Mikolajczak, M., Delzenne, N.M., de Timary, P. 2012. Role of intestinal permeability and inflammation in the biological and behavioral control of alcohol-dependent subjects. *Brain Behav Immun* 26:911–918 Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889159112000992>.
- Orio, L., Antón, M., Rodríguez-Rojo, I.C., Correias, Á., García-Bueno, B., Corral, M., de Fonseca, F.R., García-Moreno, L.M., Maestú, F., Cadaveira, F. 2017. Young alcohol binge drinkers have elevated blood endotoxin, peripheral inflammation and low cortisol levels: neuropsychological correlations in women. *Addict Biol.* 23: 1130–1144.

Queratocono: revisión y manejo optométrico

Keratoconus: overview and optometry handling

BEATRIZ SÁNCHEZ GAVILÁN

Facultad de Óptica y Optometría

Universidad Complutense de Madrid

Tutora: Laura Batres Valderas

beasan07@ucm.es

Resumen: El queratocono es una patología corneal ectásica progresiva, bilateral y no inflamatoria que afecta a 1 de cada 2000 individuos y produce descensos en la agudeza visual debido a la irregularidad de la superficie corneal dando como resultado un aumento de la miopía y del astigmatismo irregular. Existen diferentes escalas para evaluar la severidad del queratocono. El óptico optometrista deberá conocerlas para entender y explicar a los pacientes el tratamiento óptico a seguir para mejorar su calidad visual y por ende la calidad de vida. Las lentes de contacto blandas pueden ayudar en los estadios iniciales, pero a medida que la enfermedad avanza y la córnea se adelgaza y adquiere una forma cada vez más irregular se necesitarán diseños más sofisticados.

Palabras clave: queratocono, córnea, estroma, lente de contacto, Dk.

Abstract: Keratoconus is a progressive, bilateral and non-inflammatory ectatic corneal disorder that affects 1 in 2000 patients and produces decreases in visual acuity due to the irregularity of the corneal surface resulting in an increase of myopia and irregular astigmatism. There are different scales to measure the severity of keratoconus. The optometrist should be known them to understand and explain to the patients the optical treatment to follow to improve their visual quality and therefore the quality of life. Soft contact lenses can help in the early stages, but as the disease progresses and the cornea becomes thinner and more irregular in shape, more sophisticated designs will be needed.

Key words: keratoconus, cornea, stroma, contact lens, Dk.

1. INTRODUCCIÓN

El queratocono es una patología corneal ectásica progresiva, bilateral y no inflamatoria (normalmente asimétrica) caracterizada por el adelgazamiento y el debilitamiento del estroma paraxial que produce una distorsión de la superficie corneal. La córnea asume una forma cónica debido a este proceso. Como consecuencia se produce pérdida de visión por el astigmatismo irregular y la mio-pía, y de manera secundaria por las cicatrices corneales (Sinha *et al.*, 2010). Aunque tiene su inicio en la pubertad, avanzando hasta la tercera o cuarta década de vida donde suele frenarse, es cierto que puede comenzar más tarde y frenarse a cualquier edad. Lo más común es que sea un proceso aislado, sin embargo, algunos estudios indican la coexistencia del queratocono con otros trastornos como el síndrome de Down, amaurosis congénita de Leber y trastornos del tejido conectivo (Rabinowitz, 1998).

2. PATOGÉNESIS DEL QUERATOCONO

Aunque a día de hoy, son muchos los autores que definen al queratocono como una enfermedad no inflamatoria, se han encontrado marcadores inflamatorios en la lágrima de pacientes con queratocono que sugieren un papel inmunológico en la patogenesis de la ectasia (Edwards *et al.*, 2001). La causa y el mecanismo patológico subyacente se desconocen, aunque se cree que tanto el medio ambiente como algunos factores genéticos contribuyen a su desarrollo.

2.1. Estructura

Una de las primeras teorías que se manejan es la anormalidad epitelial como resultado de la liberación de enzimas proteicas que degradan el colágeno estromal para adelgazar y debilitar la córnea. En el epitelio del paciente con queratocono encontramos una reducción de colágeno tipo VII, XII y VI y en el estroma de los tipos I, III, V, XII y VI (Meek *et al.*, 2005). (Sawaguchi *et al.*, 1998) demostró el aumento de las lisozimas en la membrana basal del epitelio de una córnea con queratocono. Este estudio pone de manifiesto la relación que existe entre el metabolismo de los queratocitos y una degradación progresiva del colágeno por apoptosis.

La disposición de las fibras de colágeno en el estroma en el paciente con queratocono no se corresponde con el patrón de una córnea en la que no existe ninguna patología. En la membrana de Descemet encontramos un factor característico del queratocono y es el pleomorfismo, aparecen líneas verticales en el estroma profundo y en la membrana de Descemet, que son las estrías de Vogt, donde se asocia a opacidades corneales superficiales y profundas que van apareciendo a medida que avanzamos en las diferentes etapas.

2.2. *Genética*

Es difícil identificar los factores de riesgo genéticos ya que estamos tratando una enfermedad muy compleja. Las investigaciones han discurrido principalmente con dos enfoques bien claros, familias con herencia de queratocono y la asociación de genoma completo. Aunque el primero es poco común, la mayoría presentan un patrón de herencia autosómica dominante con expresión fenotípica variable. Sin embargo, no se han identificado genes asociados al queratocono.

Anthony *et al.* (2006) realizaron un análisis mutacional del gen VSX1 tanto en sujetos con queratocono como en sujetos normales y confirmaron que este gen ejercía un papel muy importante en estos pacientes, sin embargo, no encontraron mutaciones patógenas en el gen en sujetos normales, lo que nos indica que además pueden influir otros factores como pueden ser los ambientales.

Los avances recientes en las tecnologías de secuenciación de próxima generación prometen un progreso rápido en este campo.

2.3. *Bioquímica*

Diferentes estudios han identificado adelgazamiento estromal, anomalías en la membrana basal del epitelio y una interrupción focal de la capa de Bowman, además de depósitos de hierro en las capas basales del epitelio corneal y niveles elevados de enzimas lisosomales. Se identifican genes diferenciados en los fibroblastos corneales en pacientes con queratocono donde análisis realizados con microarrays han revelado una reducción de 212 veces en los niveles de ARNm del polipéptido ADH1B representando un fuerte marcador en el queratocono. (Sinha *et al.*, 2010)

3. SIGNOS Y SÍNTOMAS

Las anomalías estructurales en el epitelio corneal, la capa de Bowman y principalmente el colágeno estromal junto con los componentes alterados de la lágrima, son parte responsable de sus características clínicas. Los signos más característicos incluyen una disminución de la agudeza visual a todas las distancias debido a la progresión miópica y al astigmatismo irregular, el aumento de las aberraciones ópticas debido a la corrección corneal (coma) afectando a la calidad visual y distorsionando la imagen. En la etapa inicial el paciente puede no haber síntomas refiriendo una agudeza visual de unidad con su corrección mientras que en etapas más avanzadas se produce una distorsión significativa de la visión dando lugar a una reducción de la agudeza visual teniendo presente que los pacientes con queratocono nunca pierden totalmente la visión.

Los signos clínicos más frecuentes son: adelgazamiento estromal (inferotemporal, central o inferior); protuberancia cónica; anillo de Fleischer (acúmulo de hierro alrededor del cono); cicatrices en el estroma; signo de Munson (distorsión del párpado inferior); signo de Rizzuti (estrechamiento del haz de luz cuando se proyecta lateralmente); hidropesía (por roturas en la membrana de Descemet (Rabinowitz, 1998).

Las mejores herramientas diagnósticas del queratocono de las que se puede disponer son el topógrafo corneal, el retinoscopio, y lámpara de hendidura, el análisis de las aberraciones ópticas y la tomografía de coherencia óptica. Es característico en los pacientes con queratocono encontrar en la topografía una zona con mayor potencia corneal rodeada de anillos concéntricos con potencia decreciente y valores elevados de coma vertical y de RMS (*room mean square*). Después del inicio del queratocono algunos efectos como la inflamación, la degeneración o la cicatrización causan a su vez cambios en el tejido corneal. También la elasticidad corneal y la rigidez se ven gravemente afectadas en los ojos con queratocono. Cada etapa del proceso se ha estudiado en profundidad, pero como ocurre con muchas enfermedades complejas no se puede hacer distinción entre asociación, causa y efecto, lo que resulta bastante problemático.

Entre la casuística actualmente conocida podemos mencionar el frotamiento crónico de los ojos, el uso de las lentes de contacto y ciertas enfermedades alérgicas. Es muy importante en el estudio del

desarrollo del queratocono el conocimiento de las interacciones genéticas y los factores ambientales cuyas contribuciones son muchas veces desconocidas y probablemente variables.

Sin embargo, numerosos estudios confirmaron una prevalencia, del orden de 1 por cada 2000 individuos, hasta el desarrollo de los dispositivos de topografía corneal que elevaron la cifra a 54, 1190, 2300, 3,3 y 20 por cada 100,000 individuos en Estados Unidos, Francia, India, Irán (Teherán) y Medio Oriente, respectivamente (Moschos *et al.*, 2017).

No existe consenso sobre la prevalencia del queratocono en la población mundial. Se estima que varía del 4 al 108 por cada 100.000 personas en la población general. En un estudio realizado en por Bennet y Hom (2004) estimaron una prevalencia en la población general entre el 0.5 y el 2% de la población mundial y en el congreso de Monterey de 2008 se publicaron los últimos índices de prevalencia 1 de cada 2.000 y una incidencia de 2 de cada 100.000 al año (Duran & Lema, 2003).

En el congreso de las Vegas de 2011 se señaló la mayor incidencia en algunas razas como la andina.

4. CLASIFICACIÓN Y DIAGNÓSTICO

La clasificación del queratocono es importante para el seguimiento y elección del tratamiento. Existen varias escalas, como la de Amsler o el Sistema de Krumeich o más recientemente la Berlin-Ambrosio, que clasifica el queratocono en 4 etapas, basándose en variables como el valor del astigmatismo, la potencia, la transparencia corneal o el grosor de la córnea.

El paciente con queratocono en estadios iniciales suele manifestar baja agudeza visual y diplopía monocular incluso con la mejor corrección.

Es importante hacer un diagnóstico diferencial ya que existen muchas alteraciones que provocan un aumento del astigmatismo irregular con sintomatología similar a un queratocono incipiente, como, por ejemplo, la degeneración marginal pelúcida, irregularidades posteriores a cirugía refractiva o queratoplastias, entre otras.

5. TRATAMIENTO

Existen varias líneas de actuación en función de la gravedad y el estado del queratocono. El objetivo es lograr una estabilidad corneal y una mejora de la agudeza visual. Dependiendo de la etapa en la que se encuentre el queratocono, el tratamiento podrá variar desde la compensación mediante gafas o lentes de contacto en queratoconos leves, pasando por cross-linking, hasta el implante de anillos intraestromales o queratoplastia en los más avanzados. Cabe recordar que actualmente no existe tratamiento curativo para el queratocono y que todos los tratamientos actuales pretenden compensar el astigmatismo corneal irregular, proporcionar un refuerzo estructural a la córnea o eliminar el área afectada y sustituirla por tejido sano de un donante. (McMahon *et al.*, 2006)

Principalmente nos centraremos en las lentes de contacto como tratamiento ya que representa aproximadamente el 80% de las soluciones para esta ectasia (Moschos *et al.*, 2017). A continuación, se detallan los diferentes tipos de lentes de contacto en el queratocono:

a. Lentes blandas de alto espesor

Suelen adaptarse sobre todo debido al confort. Debemos tener en cuenta que a medida que la lente incrementa su grosor, necesitamos mayor permeabilidad al oxígeno por lo que necesitaremos materiales de alto Dk y módulos de elasticidad lo más bajos posibles para no tensar los tejidos oculares.

b. Lentes de contacto rígidas permeables a los gases

Su corrección se basa en crear una superficie óptica externa más homogénea (en la parte anterior de la lente) con menos aberraciones de alto orden.

Globalmente la lente de contacto más usada es la lente RPG ya que ofrecen una superficie óptica estable a la vez que corrigen las aberraciones ópticas mediante la lágrima que se queda atrapada entre la lente y la córnea.

En algunos casos el óptico puede recurrir al uso de una lente blanda debajo, sistema conocido como piggy-back, para mejorar la comodidad y el centrado (Romero-Jiménez *et al.*, 2013).

c. Lentes de contacto híbridas

Las nuevas lentes de contacto híbridas se componen de una parte central semirrígida con alta permeabilidad al oxígeno y una

parte blanda en la periferia en material hidrogel o hidrogel de sílica. Los nuevos diseños y materiales han mejorado las roturas y riesgo de hipoxia de las lentes anteriores. El diseño de la lente híbrida permite un mejor centrado lo que proporciona una buena agudeza visual y asegura la comodidad durante todo el día lo que es importante para aquellos pacientes con queratocono que no disponen de otro medio de corrección para lograr una visión totalmente satisfactoria (Carracedo *et al.*, 2014).

d. Lentes de contacto escleral

En estos últimos años se ha incrementado el uso de la lente de contacto escleral para este tipo de ectasias. Como bien describen Lo *et al.* (2014) la lente de contacto escleral ofrece una superficie amplia con apoyo en la esclera, mejorando significativamente la comodidad, asegura un reservorio lagrimal que aumenta la calidad óptica, la hidratación corneal protegiendo los márgenes palpebrales y las pestañas, y además pueden ayudar a paliar el dolor. Los estudios varían en función del tamaño de la lente, del diagnóstico, el tipo de lente escleral y el material (Severinsky & Millodot, 2010). Las lentes esclerales han hecho posible el uso prolongado y un aumento de la comodidad, teniendo en cuenta la combinación de la alta permeabilidad al oxígeno y el intercambio lagrimal que hacen que las complicaciones que se pueden derivar como el edema corneal disminuyan considerablemente.

BIBLIOGRAFÍA

- Anthony, J., V.S. Aldave, A.K. Yellere, G.L. Salem, S.A. Yoo, H. Rayner, H. Yang, G.Y. Tang, Y. Piconell & Y.S. Rabinowitz. 2006. VSX1 Gene Mutations associated with Keratoconus. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 47: 2820-2822. doi: 10.1167/iovs.05-1530
- Bennett, E.S. & M.M. Hom. 2004. *Manual of gas permeable contact lenses*. Elsevier Science, 2ª ed. 528 pp.
- Carracedo, G., J.M. González-Méijome, D. Lopes-Ferreira, J. Carballo & L. Batres. 2014. Clinical Performance of a New Hybrid Contact Lens for Keratoconus. *Eye & Cont Lens* 40:2-6. doi: 10.1097/ICL.0b013e3182a70ff2
- Duran, J.A. & I. Lema. 2003. Inflammatory markers in Keratoconus. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 44:1314
- Edwards, M., C.N. McGhee & S. Dean. 2001. The genetics of keratoconus. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 29: 345-351. doi: 10.1046/j.1442-9071.2001.d01-16.x

- Lo, H., S. Yeh & H. Cheng. 2014. Scleral contact lenses for visual rehabilitation in keratoconus and irregular astigmatism after refractive surgery. *Taiwan J. Ophthalmol.* (4):73-76. doi: 10.1016/j.tjo.2014.02.002
- McMahon, T.T., L. Szczotka-Flynn, J.T. Barr, R.J. Anderson, M.E. Slaughter, J.H. Lass, & S.K. Iyengar. 2006. A new method for grading the severity of keratoconus: the keratoconus severity score (KSS). *Cornea* 25(7):794-800. doi: 10.1097/01.ico.00000226359.26678.d1
- Meek, K.M., S.J. Tuft, Y. Huang, P.S. Gill, S. Hayes, R.H. Newton & A.J. Bron. 2005. Changes in collagen orientation and distribution in keratoconus corneas. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 46(6): 1948-56. doi: 10.1167/iovs.04-1253
- Moschos, M., E. Nitoda, P. Georgoudis, M. Balidis, K. Eleftherios & N. Kozeis. 2017. Contact lenses for Keratoconus-Current Practice. *Open Ophthalmol. J.* 11:241-251. doi: 10.2174/1874364101711010241
- Rabinowitz, Y.S. 1998. Keratoconus. Mayor Review. *Surv. Ophthalmol.* 42(4):297-319.
- Romero-Jiménez, M., J. Santodomingo-Rubido, P. Flores-Rodríguez & J.M. González-Méjome. 2013. Which soft contact lens power is better for piggyback fitting in keratoconus? *Contact Lens Ant. Eye.* 36(1):45-48. doi: 10.1016/j.clae.2012.10.070
- Sawaguchi, S., T. Fukuchi, H. Abe, T. Kaiya, J. Sugar & B.Y. Yue. 1998. Proteoglycan molecules in keratoconus corneas. *Arch. Ophthalmol.* 116(1): 62-68
- Severinsky, B. & M. Millodot. 2010. Current applications and efficacy of scleral contact lenses - a retrospective study. *J. Optom.* 3(3): 158-163. doi: 10.1016/S1888-4296(10)70022-4
- Sinha, R., Nupur, G., Namrata, S., Raghav, G., Jeewan, T.S. 2010. Keratoconus: A review of presentation patterns. *Indian J. Ophthalmol.* 58(3): 263-268.

Small World Initiative. Nuevas bacterias productoras de antibióticos. Experiencia en el Colegio Alemán de Madrid

Small World Initiative. New antibiotic-producing bacteria. Deutsche Schule Madrid experience

IRENE SÁNCHEZ MÉNDEZ, CARLOS SERNA BERNALDO Y

CECILIA VALENZUELA AGÜÍ

Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.

Tutor: Bruno González Zörn

iresan06@ucm.es

Resumen: La resistencia a antibióticos es un problema a nivel internacional que afecta a toda la población. El proyecto de “Small World Initiative”™ (SWI) comenzó en la Universidad de Yale en 2012 con el propósito de aumentar la concienciación de los estudiantes además de generar la posibilidad de descubrir nuevas moléculas que actúen como antibióticos a partir de bacterias aisladas del suelo. Para este proyecto, alumnos de la facultad de veterinaria, han colaborado con los estudiantes en últimos años de instituto del Colegio Alemán de Madrid. El principal objetivo fue compartir el conocimiento sobre las resistencias antibióticas con los estudiantes y animarles a tomar un papel activo en la lucha contra las mismas. Además, aprovechando los conocimientos en veterinaria del equipo, se usó una aproximación “One Health” para explicarles cómo influyen, el componente humano, la producción animal y el medio ambiente en el desarrollo de resistencias a antibióticos.

La parte experimental consistió en la búsqueda de bacterias productoras de fenómenos de antibiosis. Las muestras de suelo se recogieron en varias localizaciones de la región de Madrid. Se aislaron bacterias que luego fueron enfrentadas a microorganismos similares a los ESKAPE para evaluar si alguna de ellas generaba algún tipo de antibiosis frente a estos microorganismos. Por último, aquellas bacterias candidatas a ser productoras de antibióticos fueron identificadas mediante secuenciación.

Palabras clave: “Small World Initiative”, divulgación, concienciación, resistencia a antibióticos.

Abstract: Antimicrobial resistance is an issue of international concern that will have an enormous impact in global health. The Small World Initiative™ (SWI) started at Yale University in 2012 with the purpose of increasing public awareness among students, in addition to the possible discovery of new antibiotic molecules from soil bacteria.

For this project, a group of students from the Faculty of Veterinary Science of the Complutense University of Madrid have worked with pre-university students from the Deutsche Schule of Madrid. The main aim of this project was to teach knowledge about antimicrobial resistance to highschool students and to encourage them to start taking an active role in combating resistance. In addition, due to the Veterinary background of the team involved on this project, a One Health approach was used to explain the role of humans, animals and the environment in fighting antibiotic resistance.

Soil samples were collected from various locations throughout the region of Madrid. Bacteria from soil were isolated, and cultured with ESKAPE-like bacteria to evaluate the production of antibiotic substances. Then potential candidates of antibiotic producer were identified with sequencing.

Key words: “Small World Initiative”, science communication, awareness, antibiotic resistance.

1. INTRODUCCIÓN

La creciente población de bacterias resistentes a los antibióticos es una realidad que se extiende cada día a nivel mundial, provocando que los antibióticos usados para tratar las infecciones pierdan eficacia. De no encontrar soluciones, llegará un momento en el que los antibióticos conocidos serán inútiles y podríamos adentrarnos en una era post-antibiótica. Dentro de las muchas aproximaciones para luchar contra este problema, se encuentra el descubrimiento de nuevos antibióticos (Chaudhary, A. S. 2016) (De Luca, Mara. 2017). Históricamente, la mayoría de los antibióticos que se utilizan hoy en día, se desarrollaron a partir de compuestos producidos por bacterias y hongos ambientales, principalmente del género *Streptomyces* (Milind G. Watve 2001). Con el proyecto “Small World Initiative”, se apostó por los alumnos de últimos años de instituto como buscadores de nuevas bacterias productoras de antibióticos en muestras de suelo. Además se persiguió concienciar a la población sobre las resistencias antibióticas y despertar el interés por la carrera científica en edades tempranas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo con alumnos preuniversitarios del Colegio Alemán de Madrid. El proyecto se estructuró en 5 sesiones, añadiéndose una última sesión para valorar los resultados.

En la primera sesión se obtuvieron muestras de tierra en varias zonas de dentro y fuera de la región de Madrid, registrando las coordenadas del lugar.

En la segunda sesión, a partir de un gramo de tierra, se realizaron diluciones decimales con PBS hasta llegar a una dilución 10^6 . Posteriormente se sembraron 100 μ L de cada dilución en placas de medio sólido TSA al 10% empleando perlas de vidrio estériles para extender el inóculo. Las placas se incubaron durante 7 días a temperatura ambiente ($<25^{\circ}\text{C}$).

En la tercera sesión, en aquellas muestras en las que se produjo crecimiento microbiano los alumnos realizaron la identificación macroscópica de las colonias y escogieron algunas, sembrándolas en cultivo puro en placas con medio TSA 10%. Todas las placas sembradas se incubaron durante 6 días a temperatura ambiente ($<25^{\circ}\text{C}$).

En la cuarta sesión estas colonias fueron enfrentadas a organismos similares a los ESKAPE, como; *Acinetobacter baylyi*, *Bacillus subtilis*, *Erwinia carotovora*, *Enterococcus raffinosus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes* y *Pseudomonas putida*, para observar si alguna tenía capacidad de producir fenómenos de antibiosis frente a ellas. Estos organismos se escogieron por sus similitudes con los organismos ESKAPE definidos por la Organización Mundial de la Salud: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Enterobacter spp.* Una de las colonias se enfrentó, a *Klebsiella pneumoniae* resistente a amikacina y gentamicina.

En la quinta sesión se anotaron los resultados y se determinaron aquellas colonias que produjeron un efecto de antibiosis frente a los organismos ESKAPE-like. Se realizó una tinción de Gram de las mismas para determinar el tipo de microorganismo y su clasificación. La sexta sesión se centró en charlas divulgativas y en la valoración de los resultados.

Posteriormente se seleccionaron aquellas colonias que generaron los fenómenos de antibiosis más evidentes. Para proseguir con su identificación se realizó una PCR del gen codificante de la

subunidad 16S del ARNr de las colonias candidatas. Las secuencias obtenidas se alinearon mediante BLAST frente a la base de datos del NCBI con el fin de identificar el género bacteriano al que pertenecían.

3. RESULTADOS

Se tomaron 11 muestras de tierra, 9 de ellas fueron recogidas en distintos lugares de la Comunidad de Madrid, una en Toledo y otra en Guadalajara.

Dentro de cada muestra, el porcentaje de colonias crecidas en TSA10%, productoras de antibiosis varía desde un 5%, hasta un 41% (Tabla 1).

Tabla 1: Número de colonias aisladas de las muestras de suelo y porcentaje de colonias con antibiosis demostrado en cada muestra.

Muestra de suelo	Número de colonias aisladas	Colonias que presentaron antibiosis (%)
1	18	1 (5%)
2	15	3 (20%)
3	18	3 (16%)
4	12	5 (41%)
5	12	4 (33%)
6	18	1 (5%)
7	14	5 (35%)
8	9	1 (11%)
9	17	5 (29%)
10	15	1 (6%)
11	10	1 (10%)

En total se enfrentaron 158 colonias a los organismos ESKAPE-like y se obtuvieron 43 colonias que generaron fenómenos de antibiosis. De estas 43 colonias, se escogieron 15 colonias que producían un halo de antibiosis más evidente. De estas 15 colonias, 11 generaron antibiosis frente a *S. epidermidis*, 5 frente a *B. subtilis* y 1 frente a *E. coli*, *E. aerogenes* y *E. raffinosus* (Tabla 2). Los organismos ESKAPE-like frente a los cuales se comprobaron todas las colonias, fueron *S. epidermidis* y *E. coli*. 6 de los aislados, encontrados en las

Tabla 2: Número de colonias que producían antibiosis, respecto a los organismos ESKAPE-like a los que se enfrentaban. Cada aislado fue enfrentado a más de un organismo ESKAPE-like, los porcentajes se explican respecto al total de colonias enfrentadas para cada bacteria.

ESKAPE-like	Número de colonias enfrentadas	Colonias que producían antibiosis (%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	158	11 (7%)
<i>Bacillus subtilis</i>	77	5 (6%)
<i>Escherichia coli</i>	158	1 (0.6%)
<i>Enterococcus raffinosus</i>	57	1 (2%)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	73	1 (1%)
<i>Pseudomonas putida</i>	58	0 (0%)

muestras 2, 5 y 9, presentaron antibiosis contra más de un organismo ESKAPE-like.

Una de las colonias denominada 17/57, aislada de la muestra 5, produjo antibiosis frente a bacterias Gram + y Gram – y también generó un halo de antibiosis frente a *K.pneumoniae* resistente a amikacina y gentamicina.

De las 15 colonias productoras de antibiosis, se secuenció el ARNr 16S de 9 de ellas. Al identificar el género bacteriano, 3 se correspondían con el género *Streptomyces* (33%), y 6 con el género *Pseudomonas* (67%).

4. DISCUSIÓN

Del total de muestras, solo la muestra 2 y la 11 se recogieron en ambientes rurales, el resto de muestras se recogieron en parques de ciudades y zonas periurbanas. Comparando las zonas de recogida de muestra, las muestras con mayor número de colonias productoras de antibiosis se recogieron en parques urbanos. Sin embargo para poder generar una correlación exacta, el muestreo debería haber sido similar en ambos entornos.

Del total de colonias aisladas (n=158), un 27% demostraron capacidad antibiótica. De las colonias elegidas como productoras de antibiosis evidente y caracterizadas, un 33% de ellas se englobaron en el género *Streptomyces*, el género bacteriano dentro del cual se han descubierto la mayoría de las sustancias precursoras de antibióticos utilizados hoy en día (Milind G. Watve. 2001) (O.

Ceylan. 2008). El 66% de las bacterias productoras de fenómenos de antibiosis fueron identificadas como pertenecientes al género *Pseudomonas*, también un gran productor de sustancias antibióticas (Jos M. Raaijmakers. 1997).

Por otra parte la mayoría de las bacterias productoras de antibiosis tuvieron actividad únicamente frente a bacterias Gram positivas, y solo uno de los aislados presentó antibiosis frente a Gram negativas. Teniendo en cuenta que las bacterias que generan las resistencias más peligrosas pertenecen al grupo de Gram negativas y debido al reducido grupo de antibióticos disponibles para combatir las, encontrar bacterias que generen antibiosis frente a Gram negativas, es un paso importante (Hassan, M. 2012). Dado el gran espectro de acción que posee, el aislado 17/57 es un gran candidato para continuar con su caracterización.

5. CONCLUSIONES

El proyecto “Small World Initiative” es una gran oportunidad para divulgar el conocimiento sobre las resistencias antibióticas y despertar la vocación científica entre los futuros alumnos universitarios.

Los resultados indican que el muestreo de suelos es una opción viable para el descubrimiento de nuevos antibióticos.

Se debe seguir ahondando en la caracterización de los fenómenos de antibiosis producidos por las bacterias aisladas.

BIBLIOGRAFÍA

- Chaudhary, A. S. 2016. A review of global initiatives to fight antibiotic resistance and recent antibiotics' discovery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 6(6), 552–556.
- Ceylan, O., Okmen, G. & Ugur, A. 2008. Isolation of soil Streptomyces as source antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria. *EurAsian Journal of BioSciences*. 82: 73-82.
- DeLuca, Mara. King, Riley. Morsy, Mustafa. 2017. Bioprospecting saline gradient of a Wildlife Sanctuary for bacterial diversity and antimicrobial activities. *BMC Res Notes*. 10:397.
- Hassan, M., Kjos, M., Nes, I. F., Diep, D. B. & Lotfipour, F. 2012. Natural antimicrobial peptides from bacteria: Characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. *Journal of Applied Microbiology*. 113(4): 723-736.

- Raaijmakers, Jos M., Weller, David M., Thomashow, Linda S. 1997. Frequency of Antibiotic-Producing *Pseudomonas* spp. in Natural Environments. *Applied and environmental microbiology*. 6(3): 881–887.
- Watve MG, Tickoo R, Jog MM, Bhole BD. 2001. How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*? *Arch Microbiol*. 176:386–90.

Disforia de género en niños: una perspectiva global

Gender identity disorder and childs: a global review.

JOSÉ ANTONIO VALDÉS GONZÁLEZ

Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.

joseaval@ucm.es

Resumen: La disforia de género es una angustia o malestar causado por la discrepancia entre la identidad entre el género de una persona (asignado en el momento de su nacimiento y en función de criterios estrictamente biológicos, es decir, de su sexo de nacimiento) y el género o sexo sentido como propio. De esta discrepancia no tienen por qué formar parte en exclusiva los caracteres sexuales tanto primarios y secundarios, ni tampoco los roles asociados tradicionalmente a los sexos. De hecho, cada caso particular debe evaluar si la disforia es parcial o total y si es referida tanto a aspectos fisiológicos como a aspectos sociales o solo a algún aspecto determinado de la realidad del paciente.

En la actualidad, hay tres tratamientos posibles para la disforia de género. Podemos dividirlos en función de su reversibilidad en a) completamente reversibles; b) parcialmente irreversibles; y c) completamente irreversibles. Por eso los criterios diagnósticos para determinar una disforia de género son fundamentales. Sin embargo, estos criterios no pueden establecerse de una forma absoluta como ocurre en otros casos por la cantidad de factores que concurren: por un lado, la individualidad de cada caso en cuestión de disforia de género; por otro lado, la capacidad de decisión del menor para tomar una decisión informada, pues el problema no es tanto el tratamiento de la disforia como la posible reversibilidad de la decisión del menor.

Palabras clave: *disforia, género, sexo, niños, tratamiento.*

Abstract: Gender identity disorder is a distress or discomfort caused by the divergence among the gender of somebody (assigned in the birth moment and with strict biological criteria, that is based on the birth sex) and the gender which is felt by that person. In this divergence are not only considered the sexual characters nor the roles traditionally asociated to every sex. In fact, every singular case must evaluate if the gender disorder

is partial or global and if is related to physiological aspects or social aspects, or just a side of the patient life.

Nowadays, there are three posible treatments for gender identity disorder. We can divide them according to its chance to be reversible: a) completely reversible; b) partially reversible; and c) completely irreversible. That is why diagnosis criteria are essential. Nevertheless, those criteria can not be established in an absolute way because the big amount of factors that come together: on one hand, every case of disforia is an individual case with special particularities; on the other hand, the childs' ability for deciding with all the information, because the problem is not the posible treatment of disforia, but the posible change of mind of the child.

Key words: *disorder, gender, identity, childhood, treatment.*

1. INTRODUCCIÓN

La disforia de género es un trastorno que consiste en la discrepancia seria y mantenida entre el sexo asignado en el momento del nacimiento (en función de criterios biológicos) y el sexo sentido a lo largo del desarrollo de la persona. Este sexo sentido puede tener que ver con los roles característicos tradicionalmente de cada género o ir más allá y abarcar también los caracteres sexuales primarios y secundarios. En todo caso, para diagnosticar la disforia de género esta discrepancia deberá ser tal que cause un malestar o una angustia incompatible con la salud.

La primera referencia quirúrgica data de 1921, pero fue en la segunda mitad del siglo XX cuando estas intervenciones comenzaron a extenderse. En general, afecta de manera diferente a personas nacidas varones (1/12000) que a personas nacidas mujeres (1/30000). En nuestro caso, el abordaje de la transexualidad o disforia de género tiene una complicación añadida al tratarse de menores de edad. Los menores de edad están sujetos a una legislación especial a la hora de afrontar tratamientos o intervenciones quirúrgicas. Esta legislación, lejos de ser inmutable e indiscutida, es modificada cada poco tiempo en función de ideologías dominantes o de corrientes de pensamiento que pueden estar sujetas incluso a las modas.

En este análisis, consideraremos los derechos del niño atendiendo a los criterios de la Convención de los Derechos del Niño de 1989. Esta convención fundamenta todos sus artículos en el interés superior del niño. A la hora de afrontar la transexualidad o disforia de género en menores tendremos en cuenta los siguientes derechos del Niño:

a. Derecho a la identidad, Registro Civil y protección de la

identidad de género del Niño.

- b. Derecho a la intimidad personal.
- c. Derecho a la no discriminación.
- d. Derecho del Niño a ser escuchado.
- e. Derecho a la vida y a la salud del Niño.

Por otro lado, veremos que hay tres tipos de tratamientos diferentes en función de su reversibilidad: serán los tratamientos completamente reversibles, los tratamientos parcialmente reversibles y los tratamientos completamente irreversibles.

Será necesario conjugar tanto los derechos del Niño como las posibilidades de tratamiento que nos ofrece tanto la Farmacología como la Cirugía. Progresivamente, se tiende a la despatologización de la disforia de género. Hay mucha controversia en la inclusión o no de la disforia en las clasificaciones internacionales de trastornos mentales, pero sí que hay cierto consenso en considerar los síntomas psicopatológicos como una consecuencia de la disforia de género y no como una causa.

2. DISCUSIÓN

En primer lugar, a la hora de enfrentarnos al tratamiento más adecuado en los casos de disforia de género debemos entender que cada caso de disforia es único y debe ser tratado de forma individual. Si esto es así en adultos, mucho más en el caso de menores de edad. La disforia puede presentarse como discrepancia total entre el sexo asignado y el sexo sentido, como discrepancia parcial o como falta de reconocimiento en los roles asociados a cada sexo. En algunos casos es necesaria una intervención farmacológica y finalmente una intervención quirúrgica de reasignación de género; pero en otros casos solo se requiere terapia hormonal que detenga el avance de la diferenciación sexual hasta cierto grado de androgenia en el que la persona se encuentra cómoda. Y en muchas otras ocasiones, la disforia puede resolverse mediante tratamiento psicológico.

Las opciones de tratamiento incluyen a) cambios en la expresión y en el rol de género. Estos cambios pueden consistir en vivir cierto tiempo en el rol del género opuesto, de manera consonante con el género sentido de la persona; b) terapia hormonal, que puede buscar feminizar o masculinizar el cuerpo; c) cirugías que

modifiquen caracteres sexuales primarios o secundarios; y d) psicoterapia.

En todo caso, lo fundamental es el diagnóstico adecuado. Y en el caso de la disforia de género no existen unos criterios científicos incontestables que puedan seguirse en clínica para diagnosticar inequívocamente esta situación (esto es así tanto en el caso de menores que nos ocupa como en el caso de adultos transgénero). Depende de la experiencia clínica del médico, así como de la madurez y capacidad del menor.

Los criterios de diagnóstico actualmente utilizados son los siguientes:

a. Una incongruencia marcada entre el género sentido o expresado y el género asignado durante al menos 6 meses de duración, que se manifiesta en al menos dos de los siguientes criterios:

- Una marcada incongruencia entre el género vivido y las características sexuales primarias y/o secundarias (en nuestro caso, la anticipación de las características sexuales secundarias).

- Un fuerte deseo de librarse de las características sexuales primarias y/o secundarias debido a una marcada incongruencia con el género (en nuestro caso, el deseo de evitar el desarrollo de características sexuales secundarias).

- Un fuerte deseo de tener los caracteres sexuales primarios y/o secundarios de otro género.

- Un fuerte deseo de ser del sexo opuesto (o algún género alternativo diferente del género asignado).

- Un fuerte deseo de ser tratado como del otro sexo (o alguna alternativa de género diferente a la del género asignado).

- Una fuerte convicción de que se tienen los sentimientos y reacciones propias del otro sexo (o algún género alternativo diferente del género asignado).

b. La condición se asocia con malestar clínicamente significativo o deterioro en las áreas sociales, ocupacionales u otras importantes del funcionamiento del individuo.

Una vez establecido el diagnóstico es necesario decidir el tratamiento. Podemos dividir las diferentes posibilidades de tratamiento en función de su reversibilidad; así tendremos los tratamientos a) completamente reversibles; b) intervenciones parcialmente reversibles, y por último, c) intervenciones irreversibles.

Los tratamientos completamente reversibles son los tratamientos llamados de “supresión de la pubertad”. Consisten en el uso de análogos de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) o, como alternativa, el uso de progestinas (medroxiprogesterona) u otros medicamentos que disminuyan los efectos hormonales (espironolactona o anticonceptivos orales). El uso temprano de hormonas supresoras de la pubertad puede evitar consecuencias negativas sociales y emocionales de la disforia de género con mayor eficacia que con su uso posterior.

Los tratamientos parcialmente reversibles consisten en la terapia hormonal cruzada para masculinizar o feminizar el cuerpo. Los regímenes hormonales en el caso de niños difieren significativamente de los que se utilizan en adultos. Serán tratamientos, fundamentalmente basados en estrógenos (etinilestradiol, 17-beta estradiol, valerato de estradiol o estrógenos conjugados) y testosterona (cipionato de testosterona, undecanoato de testosterona o directamente testosterona por vía transdérmica).

Los tratamientos irreversibles consisten en las intervenciones quirúrgicas de reasignación de género. La cirugía genital no debe llevarse a cabo hasta que el individuo no alcance la mayoría de edad legal y además haya vivido durante, al menos, 12 meses en el rol de género que considera congruente con la identidad de género.

3. CONCLUSIONES

La disforia de género es una situación compleja, pues exige una gran madurez emocional, así como una alta dosis de autoconocimiento para determinarla. La infancia es un periodo de cambio constante en el que las decisiones se toman, en general, sin tener en cuenta el largo plazo. El problema radica, pues, en la reversibilidad o no de los deseos del menor. La posibilidad de errores en el diagnóstico a edades tempranas es muy elevada (cifrándose en el 95% por algunos autores) y los tratamientos irreversibles causarían importantes mutilaciones. Los datos que ofrece la literatura indican que la persistencia en la disforia de género oscila entre el 37% y el 27%; por tanto, en el mejor de los casos, solo uno de cada tres menores tratados confirmaría y mantendría el diagnóstico de disforia de género.

En todo caso, cualquier intervención debe ir encaminada al interés supremo del menor y a la disminución (tanto como sea po-

sible) de la angustia y el malestar asociado a la disforia de género en los niños que realmente la mantienen. Por eso, el diagnóstico y tratamiento absolutamente individualizado y particular es fundamental en el desarrollo y en la minimización del sufrimiento de las personas con disforia de género.

Por ello, las Unidades de Transexualidad e Identidad de Género deben estar constituidas por diversos profesionales de la salud que aporten distintas visiones de la situación del paciente. Estos profesionales deberán ser endocrinos, pediatras, psicólogos y psiquiatras que ayuden a cada persona a vivir una vida plena, acorde con sus expectativas y libre de discrepancias físicas o psicológicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Bartolomé Tutor, A. (Coord.). 2017. *Menores e identidad de género. Aspectos sanitarios, jurídicos y bioéticos*. Editorial jurídica SEPÍN, Madrid.
- Guzmán Parra, J., Sánchez Álvarez, N., de Diego Otero, Y., Pérez-Costillas, L., Esteva de Antonio, I., Navais Barranco, M., Castro Zamudio, S., Bergero Miguel, T. 2016. Sociodemographic Characteristics and Psychological Adjustment Among Transsexuals in Spain. *Arch Sex Behav*. 45: 587-596.
- Baudewijntje P. C. Kreukels, Cohen-Kettenis, P. T. 2011. Puberty suppression in gender identity disorder: the Amsterdam experience. *Nature Reviews Endocrinology*. 7: 466-472
- Entrevista personal con Isabel Esteva de Antonio, coordinadora del Grupo de la Sociedad Española de Endocrinología sobre Identidad y Diferenciación Sexual (GIDSEEN). Hospital Regional Universitario de Málaga.

Estudio de actividades antimicrobianas en cepas aisladas de sedimentos marinos antárticos

Study of antimicrobial activities in strains isolated from Antarctic marine sediments

JAVIER VICENTE SÁNCHEZ, ALEJANDRO ALONSO CONDE,
DOMINGO MARQUINA DÍAZ

Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología. Facultad de
Ciencias Biológicas Universidad Complutense de Madrid
javievic@ucm.es

Resumen: Las adaptaciones desarrolladas por los microorganismos antárticos frente a las extremas condiciones a las que se encuentran sometidos hacen que estos sean considerados como una fuente potencial de nuevos agentes antimicrobianos.

Se realizaron ensayos de antibiosis con cepas bacterianas y fúngicas aisladas en una muestra de sedimentos marinos procedentes de Isla Decepción, Antártida. A estos, se han sumado ensayos de antibiosis frente a bacterias tipo de laboratorio. Los resultados reflejan que son los hongos las potenciales fuentes de nuevos antimicrobianos.

Además, se estudiaron los antibiogramas de las cepas antárticas frente a antibióticos de uso clínico. Los resultados sobre resistencias que se obtengan en este estudio podrían servir como punto de partida para conocer el grado de impacto de origen antrópico en la resistencia a antibióticos. A la vista de los resultados, podemos decir, que la mayor parte de las cepas de nuestro estudio son cepas resistentes a los antibióticos empleados.

Abstract: The adaptations developed by Antarctic microorganisms facing the extreme conditions to which they are subjected make them considered to be a potential source of new antimicrobial agents.

Antibiosis essays were performed on bacterial and fungal strains isolated in a sample of marine sediments from Deception Island, Antarctica. To these, antibiosis essays against laboratory type bacteria have been added. The results reflect that fungi are the potential source of new antimicrobials. In addition, the antibiograms of Antarctic strains were studied against antibiotics for clinical use. The results on resistance obtained in this study could serve as a starting point to know the degree of anthropogenic impact

on antibiotic resistance. In view of the results, we can say that most of the strains of our study are resistant to the antibiotics used.

Palabras clave: antibióticos, resistencias, antibiosis, Antártida, Isla Decepción

Keywords: antibiotics, resistances, antibiosis, Antarctica, Deception Island

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se está especial hincapié en el incremento de microorganismos patógenos multirresistentes a los antibióticos utilizados tradicionalmente. La Antártida, es uno de los últimos territorios inexplorados, donde la presencia humana ha sido y es escasa o nula, por lo que resultaría extraño encontrar resistencias. Por tanto, podemos hablar de la Antártida como una fuente potencial de nuevos compuestos activos para el control de microorganismos patógenos.

En trabajos anteriores realizados por nuestro grupo (pendientes de publicación) se aislaron diferentes cepas bacterianas y fúngicas a partir de una muestra de sedimentos marinos procedentes de Isla Decepción. Dichas cepas fueron identificadas por métodos moleculares. El interés de estos aislamientos radica en determinar el perfil de resistencia y/o sensibilidad, tanto a la producción de nuevos antibióticos como a la sensibilidad frente a antibióticos empleados tradicionalmente en clínica.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. *Aislamiento e identificación de microorganismos antárticos.*

Para el presente estudio se emplearon las cepas bacterianas (Figura 1) y fúngicas (Figura 2) obtenidas por técnicas de aislamiento tradicional a partir de una muestra tomada en la Celda de Precipitación Hidrotermal N°2 colocada en la campaña HYDRO-DEC-2000 (Acción Especial ANT1998-1557-E/HESP) en Isla Decepción, Islas Shetland del Sur, Antártida (60° 34' 9.300" W 62° 58' 48.30" S). Las cepas se identificaron por técnicas moleculares, empleándose las secuencias ribosomales codificantes para la subunidad 16S del ribosoma en bacterias, y la secuencia ITS en hongos filamentosos y levaduras.

DIP-1	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-10	<i>Bacillus cereus</i>	DIP-19	<i>Bacillus sp.</i>
DIP-2	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-11	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-20	<i>Bacillus sp.</i>
DIP-3	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-12	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-21	<i>Bacillus mycoides</i>
DIP-4	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-13	<i>Bacillus megaterium</i>	DIP-22	<i>Bacillus simplex</i>
DIP-5	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-14	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-23	<i>Bacillus sp.</i>
DIP-6	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-15	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-24	<i>Bacillus sp.</i>
DIP-7	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-16	<i>Bacillus simplex</i>	DIP-25	<i>Bacillus sp.</i>
DIP-8	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-17	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-26	<i>Bacillus sp.</i>
DIP-9	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-18	<i>Bacillus sp.</i>	DIP-27	<i>Bacillus sp.</i>

Figura 1. Cepas bacterianas de origen antártico identificadas por técnicas moleculares empleadas en los ensayos.

DIF-1	<i>Aspergillus sp.</i>	DIF-6	<i>Penicillium sp.</i>
DIF-2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	DIF-7	<i>Penicillium sp.</i>
DIF-3	<i>Aspergillus sp.</i>	DIF-8	<i>Penicillium crustosum</i>
DIF-4	<i>Aspergillus sydowii</i>	DIF-9	<i>Exophiala sp.</i>
DIF-5	<i>Penicillium sp.</i>	DIF-10	<i>Penicillium chrysogenum</i>

Figura 2. Cepas fúngicas de origen antártico identificadas por técnicas moleculares empleadas en los ensayos.

2.2. Ensayo de actividades antimicrobianas.

Como bacterias sensibles para estos ensayos se emplearon cepas de la colección del Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid: *Escherichia coli* (ECOL), *Salmonella sp.* (SALM), *Pseudomonas aeruginosa* (PAER), *Enterobacter aerogenes* (EAER), *Enterococcus faecium* (EFAE), *Pseudomonas fluorescens* (PFLU), *Bacillus subtilis* (BSUB), y *Staphylococcus aureus* (SAUR).

Para los ensayos de antibiosis se emplearon discos de antibiograma (Oxoid, Thermo Scientific®) con una cantidad de antibiótico conocida: ampicilina, 10 µg (AMP10); estreptomycin, 10 µg (S10); cotrimoxazol, 25 µg (SXT25); vancomicina, 30 µg (VA30); gentamicina, 10 µg (CN10); ácido nadilíxico, 30 µg (NA30); eritromicina, 15 µg (E15); y ciprofloxacina, 10 µg (CIP10). Se clasificó a los organismos en sensibles, tolerantes o resistentes en función del

radio del halo de inhibición provocado por cada uno de los antibióticos estudiados.

Para los ensayos con bacterias se empleó *SeaWater-Yeast-Peptide* modificado (por litro): extracto de levadura (3 g), proteosa peptona (5 g), sal marina para acuarios (30 g), agar europeo (15 g). Para los ensayos con hongos el citado medio se enriqueció con dextrosa (10 g). Los medios fueron autoclavados a 121°C durante 21 minutos y posteriormente plaqueados. Como diluyente para preparar suspensiones bacterianas se utilizó suero salino al 0,9% de NaCl.

En todos los casos se realizó una siembra en césped a partir de una suspensión bacteriana 1,0 en la escala McFarland. Sobre el césped se dispusieron los discos de antibiótico con las cargas arriba indicadas, secciones de 5 mm de diámetro de un cultivo de hongos previo, o una cantidad de biomasa bacteriana según correspondía. Todos los ensayos se incubaron a 32°C determinando los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas.

3. RESULTADOS

De los 182 ensayos de antibiosis realizados entre las bacterias antárticas con las bacterias tipo ninguno mostró una inhibición significativa del crecimiento. De los 702 ensayos realizados entre bacterias antárticas, únicamente 17 presentaron algún tipo de inhibición. Los aislamientos DIP-16 y DIP-21 fueron los que mostraron un mayor número de inhibiciones de crecimiento frente a cepas antárticas (6 y 7 respectivamente). DIP-25 produjo la inhibición de crecimiento de 2 cepas antárticas, y DIP-10 y DIP-11 tan solo de una. El resto no presentaron inhibición del crecimiento.

Los resultados más significativos fueron los obtenidos con las cepas hongos filamentos aislados. Se realizaron 80 cruces con las distintas bacterias tipo, de los que 8 presentaron inhibición del crecimiento. DIF-1 fue el hongo que más número de inhibiciones produjo (3), el resto fueron provocadas por: DIF-10 (2), DIF-2, DIF-5 y DIF-6 (1).

Centrándonos en los ensayos de inhibición entre hongos filamentosos y cepas bacterianas antárticas (270 cruces) (Figura 3), 51 presentaron inhibición del crecimiento. DIF-7 y 8, fueron las cepas fúngicas que mayor número de inhibiciones provocaron, 11 cada una de ellas. El resto de las inhibiciones fueron provocadas



Figura 3. Número de halos producidos por las cepas fúngicas antárticas frente a cepas bacterianas antárticas.

por: DIF-5 (10), DIF-1 (9), DIF-6 (6), DIF-3, DIF-9 y DIF-10 (4), y DIF-4 (3).

A la vista de los resultados obtenidos en los ensayos con hongos, observados de una manera global y de acuerdo al número total de halos que producen, podemos apreciar que las cepas fúngicas que producen un mayor nivel de inhibición del crecimiento bacteriano, en orden decreciente son: DIF-1 (12), DIF-5, 7 y 8 (11), DIF-6 (7), DIF-10 (6), DIF-2 (5), DIF-9 (4) y DIF-4 (3).

Por otro lado, al estudiar las resistencias/sensibilidades de las cepas bacterianas antárticas a los antibióticos de uso clínico (Figura 4), podemos inferir que existe una elevada proporción de resistencias, 15 de las 24 cepas empleadas en el estudio presentan resistencias a todos los antibióticos estudiados. Únicamente la cepa (DIP-27) presenta sensibilidad a 6 de los 8 antibióticos empleados.

Todas las cepas bacterianas antárticas resultaron resistentes al ácido nadilíxico (24 de 24); mientras que, en el polo opuesto, el antibiótico que presentó más sensibilidades fue la ampicilina (7 de 24).

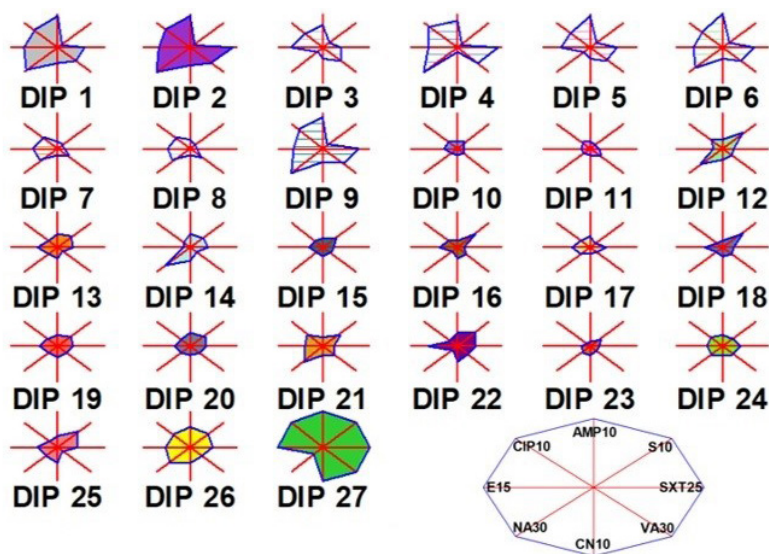


Figura 4. Diagramas de rayos y estrellas para la caracterización de las cepas bacterianas en función de las resistencias a los antibióticos de uso clínico empleados.

4. DISCUSIÓN

Onofri *et al.* (2009) ya habían puesto de manifiesto la presencia de hongos procedentes de suelos antárticos que inhibían el crecimiento de algunas cepas tipo como *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*. En nuestro caso no se ha observado la inhibición del crecimiento de *E.coli*, pero sí de *B.subtilis* (cepas de laboratorio). Destacar que la proporción en el número de halos originados por los hongos frente a cepas bacterianas es menor cuando cruzamos las cepas tipo que cuando empleamos cepas antárticas (10 y 18,88 % respectivamente). En este caso, la explicación más plausible es la pertenencia al mismo hábitat, las cepas fúngicas han ido evolucionando a aquellas con capacidad de reducir sus competidores en el medio. De la misma manera explicamos los resultados obtenidos en el estudio de las cepas tipo frente a las antárticas, la diferencia de hábitat implica que no se hayan desarrollado mecanismos de competencia frente a las especies tipo.

La Antártida es un ambiente con unas condiciones extremas, el hábitat se mantiene estable a lo largo del tiempo, sin apenas cambios. Los microorganismos que allí habitan están adaptados de una manera extrema a esas condiciones. La presencia de competencia

entre especies bacterianas de un mismo hábitat (o cepas diferentes de una misma especie) entre sí puede considerarse nula, algo que aparece de forma significativa en nuestro estudio. Los ensayos de antibiosis entre bacterias antárticas entre sí, apenas produjo algunas inhibiciones del crecimiento (2,42% de los cruces presentaron halo). La presencia de inhibiciones del crecimiento de hongos filamentosos antárticos sobre bacterias antárticas es bastante abundante (Yogabaanu *et al.*, 2017).

Analizando los resultados obtenidos en el ensayo de bacterias tipo con los hongos antárticos, se observa que la mitad de las inhibiciones provocadas por los hongos filamentosos fueron sobre la cepa de *B.subtilis* (4 halos). Todas nuestras cepas bacterianas antárticas identificadas forman parte del género *Bacillus*, por lo que podríamos considerar la presencia de una competencia interespecifica con este género bacteriano.

La zona de origen de la muestra es una zona inexplorada, donde, la posibilidad de que se ejerza una presión selectiva exógena o de origen antrópico sobre la microbiota allí establecida es mínima. No obstante, alrededor del 80% de los estudios de antibiosis indican resistencia a los antimicrobianos. Van Goethem *et al.* (2018) ha descrito a los suelos antárticos como un posible reservorio de genes de resistencia a antibióticos

No obstante, cabe destacar que las cepas pertenecen todas ellas a un mismo ambiente en el que interactúan unas con otras, pudiéndose dar fenómenos de transferencia horizontal, explicación plausible a la uniformidad de las resistencias en este ambiente (Goldstein *et al.*, 2007) o simplemente se han conservado por transferencia vertical. Recaltar que las cepas proceden de sedimentos marinos, y destacar que las bacterias resistentes son aún más frecuentes en ambientes acuáticos (Kümmerer, 2009).

En estudios previos se ha observado que la ampicilina era efectiva contra bacterias antárticas (Tomova *et al.* 2015); en nuestro caso la ampicilina ha sido el antibiótico al que más sensibilidad han presentado nuestras cepas. A la vista de estos resultados, y considerando que se trata de un antimicrobiano de origen semisintético, se abre una puerta a posteriores investigaciones.

5. CONCLUSIONES

1. Existe una baja competencia entre las cepas bacterianas aisladas en el ambiente antártico (al menos las presentes en nuestra muestra).

2. Se observa un mayor efecto inhibitorio de los hongos filamentosos sobre las bacterias de su hábitat que de estos sobre bacterias de colección.

3. Las sustancias inhibidoras del crecimiento producidas por los hongos parecen afectar a la mayor parte de las bacterias antárticas del género *Bacillus*.

4. El número de resistencias a antibióticos de uso clínico (empleados en este ensayo) en bacterias antárticas es muy elevado, hecho que resulta extraño debido a la baja exposición a antibióticos clínicos en ese ambiente.

5. Este estudio crea excelentes perspectivas para la búsqueda de nuevas cepas antárticas como fuente de agentes antimicrobianos desconocidos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Martínez-Frías, Profesor de Investigación del Instituto de Geociencias, IGEO, por facilitarnos la muestra procedente de Isla Decepción, Antártida.

BIBLIOGRAFÍA

- Kümmerer, K. 2009. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part II. *Chemosphere*. 75(4): 435-441.
- Tomova, I., Stoilova-Disheva, M., Lazarkevich, I. and Vasileva-Tonkova, E. 2015. Antimicrobial activity and resistance to heavy metals and antibiotics of heterotrophic bacteria isolated from sediment and soil samples collected from two Antarctic islands. *Frontiers in Life Science*. 8(4): 348-357.
- Onofri, S., Fenice, M., Cicalini, A., Tosi, S., Magrino, A., Pagano, S., Selbmann, L., Zucconi, L., Vishniac, H., Ocampo-Friedmann, R. and Friedmann, E., 2000. Ecology and biology of microfungi from Antarctic rocks and soils. *Italian Journal of Zoology*. 67(sup1):163-167.
- Van Goethem, M., Pierneef, R., Bezuidt, O., Van De Peer, Y., Cowan, D. and Makhalanyane, T., 2018. A reservoir of 'historical' antibiotic resistance genes in remote pristine Antarctic soils. *Microbiome*. 6(1):40. doi: 10.1186/s40168-018-0424-5.
- Yogabaanu, U., Weber, J., Convey, P., Rizman-Idid, M. and Alias, S., 2017. Antimicrobial properties and the influence of temperature on secondary metabolite production in cold environment soil fungi. *Polar Science*. 14: 60-67.

La intoxicación por plomo: un problema para la conservación de las aves rapaces

Lead intoxication: a conservation problem in avian raptors

ELISA VILLÉN MOLINA

Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid

Tutores: Casilda Rodríguez Fernandez y Fernando González González

eliville@ucm.es

Resumen: El descenso poblacional que sufren muchas especies se relaciona con la presencia de contaminantes en el medio ambiente. Uno que presenta una gran relevancia es el plomo, cuya intoxicación produce morbilidad y mortalidad en aves rapaces silvestres, afectando en mayor medida a especies depredadoras y longevas por sufrir bioacumulación y bioamplificación. Por ello, el objetivo de nuestra revisión es conocer el impacto que produce el plomo en la salud de las aves rapaces silvestres, cuáles son los mecanismos implicados y el abordaje terapéutico de la intoxicación. El plomo medioambiental está presente a concentraciones peligrosas para la fauna salvaje debido a actividades humanas, especialmente la caza, intoxicándose las aves rapaces generalmente al ingerir animales que lo contienen en su organismo. El metal se acumula en hueso (94%), sangre (4%), SNC y otros órganos (2%), provocando alteraciones sistémicas (destacando las nerviosas, hematopoyéticas, digestivas). Puede producir intoxicaciones subclínicas, crónicas o agudas y las diferencias de sensibilidad inter-especie y la falta de estudios complican un manejo terapéutico adecuado. El tratamiento etiológico consiste en la extracción de plomo del organismo, mediante métodos físicos o fármacos quelantes como el Ca-Na₂-EDTA o el ácido dimercaptosuccínico, siendo necesaria la combinación de ambos en algunas ocasiones. El tratamiento de soporte depende del estado clínico del paciente y trata de restablecer su estado fisiológico mediante el uso de fluidoterapia y fármacos como procinéticos, anticonvulsivos y/o antioxidantes. Esta intoxicación puede representar un problema silente siendo probable que se esté subestimando su efecto sobre las poblaciones salvajes, por lo que el abordaje terapéutico puede resultar beneficioso a nivel individual pero tiene un impacto relativamente pequeño en la conservación. Por ello,

se deberían implementar acciones para prevenir su presencia a nivel medioambiental.

Palabras clave: plomo, aves rapaces, intoxicación, tratamiento.

Abstract: The population decline suffered by many species is related to the presence of pollutant substances in the environment. One that has a great relevance is lead, whose intoxication produces morbidity and mortality in wild raptors, especially affecting predators and long-lived species due to bioaccumulation and bioamplification. Therefore, the objective of our review is to know the impact that lead has on the health of wild raptors, what are the mechanisms involved and the therapeutic approach to poisoning. Environmental lead is present in dangerous concentrations in wildlife due to human activities, especially hunting. Raptors generally become intoxicated by ingesting animals that contain lead in their body. The metal accumulates in bone tissue (94%), blood (4%), CNS and other organs (2%), causing nervous, hematopoietic, digestive alterations, etc. It can produce subclinical, chronic or acute intoxications and the differences of inter-species sensitivity and the lack of studies complicate an adequate therapeutic management. The etiological treatment consists in the extraction of lead from the organism, by physical methods or chelating drugs such as Ca-Na₂-EDTA or dimercaptosuccinic acid, and sometimes the combination of both is necessary. The support treatment depends on the clinical condition of the patient and aims to restore its physiological state through the use of drug such as fluid therapy, prokinetics, anticonvulsants and/or antioxidants. This intoxication may represent a silent problem and it is likely that its effect on wild populations is underestimated and therefore the therapeutic approach may be beneficial at individual level but has a relatively small impact on conservation. Because of this, actions should be implemented to prevent its presence at the environmental level.

Keywords: lead, birds of prey, intoxication, treatment.

1. INTRODUCCIÓN

El descenso poblacional que sufren muchas especies se relaciona con la presencia de contaminantes en el medio ambiente (Ortiz-Santaliestra *et al.* 2015; De Francisco *et al.* 2003; Redig & Arent 2008). El plomo es un metal pesado que ejerce un efecto tóxico en numerosas especies de seres vivos. Es ubicuo, resistente a la corrosión, no biodegradable y tiende a ligarse a moléculas orgánicas (De Francisco *et al.* 2003) causando efectos nocivos para la salud, algunos potencialmente irreversibles. Afecta especialmente a especies predatoras y longevas (Gil-Sánchez *et al.* 2018) with pernicious consequences especially in long-lived predators. The causes of lead ammunition ingestion in Bonelli's eagle (*Aquila fasciata*). El objetivo de nuestra revisión es conocer mediante qué mecanismo

actúa, cómo afecta y cuál es el impacto que ejerce sobre aves rapaces silvestres.

2. ¿CÓMO LLEGA EL PLOMO A LAS AVES SILVESTRES?

La presencia del plomo en el medio ambiente está muy relacionada con las actividades humanas (De Francisco *et al.* 2003; Flora *et al.* 2012; Redig & Arent 2008). Este metal perdura en el medio dado que es resistente a la corrosión y no es biodegradable. Se sigue liberando en actividades cinegéticas, pesqueras y, de forma menos importante, en diversas actividades industriales, manteniendo su impacto y llegando a encontrarse en concentraciones peligrosas para la salud de la fauna silvestre (Flora *et al.* 2012; De Francisco *et al.* 2003). Diversos estudios muestran un aumento de la exposición de aves rapaces al plomo durante la temporada de caza (González *et al.* 2017; Gangoso *et al.* 2009; Carneiro *et al.* 2014). Entre los vertebrados salvajes, el grupo más afectado por este tóxico son las aves (De Francisco *et al.* 2003), y la vía más común de intoxicación es la ingestión (Mateo *et al.* 2013). Las aves acuáticas y granívoras se intoxican de forma directa por la ingestión, respectivamente, de pesos de pesca y perdigones (al confundirlos por piedras para utilizarlos como gastrolitos). Los depredadores y las aves carroñeras se intoxican de forma secundaria, ingiriendo animales que se intoxicaron de forma primaria o disparados (De Francisco *et al.* 2003). Al tratarse de un material que produce efectos de bioacumulación y bioamplificación (Basile *et al.* 2012; Rubio-Franchini & Rico-Martínez 2011), los predadores actúan como bioindicadores del riesgo toxicológico del área en la que se encuentran (De Francisco *et al.* 2003; Redig & Arent 2008). Una vez ingerido, el plomo se solubiliza a pH ácido en el estómago (muy bajo en carroñeras (Redig & Arent 2008)) y se absorbe en el intestino delgado. Llega a la sangre y se distribuye de forma que, en adultos, el 94% se acumula en el hueso unido a cristales de hidroxapatita, el 4% en sangre y el 2% entre el sistema nervioso central (SNC), riñones e hígado. En caso de alteración ósea, los osteoclastos actúan remodelando la zona afectada y el plomo acumulado en la cortical del hueso pasa a la sangre, aumentando temporalmente la plumbemia. El almacenamiento y la movilización de plomo en hueso dependen de factores como dosis de exposición, raza, edad o patologías óseas (Flora *et al.* 2012).

3. ¿CÓMO AFECTA EL PLOMO AL ORGANISMO?

El plomo produce toxicidad por estrés oxidativo y por mecanismo iónico de toxicidad. El estrés oxidativo se debe al desequilibrio entre la producción de radicales libres y los mecanismos de detoxificación y de reparación. El plomo inactiva antioxidantes endógenos al formar enlaces covalentes con los mismos, impidiendo que donen electrones a las especies reactivas de oxígeno (ROS). El elevado estrés oxidativo producido por los ROS conduce a la alteración de membranas y sistemas enzimáticos, y con ello a la disfunción fisiológica a distintos niveles y a la muerte celular. El mecanismo iónico de toxicidad consiste en la sustitución de otros metales bivalentes (Ca^{++} , Mg^{++} , Fe^{++}) y algunos monovalentes (Na^{+}) en sus funciones fisiológicas por átomos de plomo, alterando diversas vías de señalización y cadenas enzimáticas, incluida la apoptosis (Flora *et al.* 2012). De tal forma, afecta a distintas dianas biológicas y originando efectos que vamos a agrupar por sistemas para su descripción:

Sistema nervioso: Se acumula en los astrocitos interfiriendo la transmisión del impulso nervioso (Flora *et al.* 2012; Redig & Arent 2008), alterando la liberación de neurotransmisores, la generación del potencial de acción y otros procesos dependientes de sodio, la comunicación y unión celular afectando a la memoria (Flora *et al.* 2012) y la síntesis de mRNA a nivel del hipocampo (An *et al.* 2014). A nivel clínico puede originar ceguera, ataxia, convulsiones, degeneración encefálica y debilidad muscular (Flora *et al.* 2012; Redig & Arent 2008).

Sistema hematopoyético: El plomo disminuye la síntesis de hemoglobina por inhibición del ácido δ -aminolevulínico deshidratasa, el ácido aminolevulínico sintetasa y la ferroquelatasa (Flora *et al.* 2012); aumentando el estrés oxidativo por los metabolitos acumulados. En aves se ha observado anemia microcítica hipercrómica (González *et al.* 2017; Ferreyra *et al.* 2015). En glóbulos rojos se pueden observar punteados basófilos y aumento de su fragilidad, que produce hemólisis, biliverdinuria y necrosis vascular fibrinoide (Redig & Arent 2008).

Otros sistemas: Disminuye la motilidad del buche por aumento de AMP cíclico en músculo liso (Redig & Arent 2008) y suele aparecer diarrea verdosa (De Francisco *et al.* 2003). Puede producir desmineralización ósea (Gangoso *et al.* 2009), disfunción cardíaca

por alteración en la conducción o necrosis miocárdica (puede relacionarse con una baja resistencia al ejercicio en aves recuperadas) (Redig & Arent 2008) y disminución del éxito reproductivo (afectando a la recuperación de poblaciones en riesgo) (Gil-sánchez *et al.* 2018).

4. ¿CUÁL ES LA PROBLEMÁTICA CLÍNICA?

En el trabajo clínico es esencial saber cuándo se debe aplicar un tratamiento quelante. Existen clasificaciones basadas en la sintomatología clínica y los niveles de plomo en sangre, pero los puntos de corte varían en función de los autores y podrían existir diferencias de sensibilidad entre especies, siendo el buitre leonado (*Gyps fulvus*) especialmente sensible (González *et al.* 2017). La manifestación clínica depende, entre otros factores, de los niveles orgánicos del tóxico y la forma de exposición. En una intoxicación aguda, los animales pueden presentar debilidad, embotamiento mental, discapacidad visual, uratos verdes, anemia, hipoproteíнемia y/o distrés respiratorio, con mortalidad en algunos casos. En la intoxicación crónica se observa condición corporal baja, debilidad, proteínas totales y hematocrito disminuidos, parálisis del buche, depresión y biliverdinuria. La intoxicación subclínica es un problema silente ya que no manifiesta signos clínicos, pero puede desencadenar una intoxicación aguda por un fenómeno de redistribución (Redig & Arent 2008; Gan 2014; De Francisco *et al.* 2003; Hunt 2012).

5. ¿CUÁLES SON LAS HERRAMIENTAS TERAPÉUTICAS?

El tratamiento etiológico va dirigido a disminuir la absorción del plomo y aumentar su eliminación sistémica. Si se confirma su presencia en tracto digestivo se debe eliminar mediante endoscopia, lavado gástrico, cirugía o mediante la administración oral de carbón activo. Para facilitar la eliminación del plomo absorbido y distribuido en el organismo se utilizan quelantes. El CaNa_2EDTA es el más usado, siendo eficaz en extraer Pb de hueso pero no actúa sobre SNC, al contrario que el DMSA que actúa más sobre tejidos blandos, incluido el SNC. Actualmente se recomienda una combinación de ambos quelantes (Redig & Arent 2008) pero el uso del DMSA está restringido a los países en los que se comercializa. El tratamiento de soporte (Redig & Arent 2008; De Francisco *et al.*

2003; Flora *et al.* 2012) depende del estado clínico del paciente y se basa en la administración de fluidoterapia, transfusiones sanguíneas, hierro dextrano, procinéticos, anticonvulsivantes, complejo vitamínico B, etc. (De Francisco *et al.* 2003; Flora *et al.* 2012). Se recomienda aportar metales divalentes como el zinc y el selenio para favorecer su reposición, ya que también se quelan por el EDTA (De Francisco *et al.* 2003; Flora *et al.* 2012). Entre las nuevas perspectivas terapéuticas destaca el uso de antioxidantes, de origen natural, que pueden prevenir, reducir y/o revertir el daño oxidativo, como vitaminas B6, B1, C y E, la quercetina y el ácido α -lipoico (Flora *et al.* 2012; Gurer & Ercal 2000) particularly in developing countries. Though various occupational and public health measures have been undertaken in order to control lead exposure, cases of lead poisoning are still reported. Exposure to lead produces various deleterious effects on the hematopoietic, renal, reproductive and central nervous system, mainly through increased oxidative stress. These alterations play a prominent role in disease manifestations. Modulation of cellular thiols for protection against reactive oxygen species (ROS y el uso de melatonina, que puede ser útil como antioxidante y reducir los niveles de plomo en la sangre y el sistema nervioso (Hernández-Plata *et al.* 2015).

6. CONCLUSIONES

Es probable que el efecto de este metal a bajas dosis esté subestimado debido a la latencia de su efecto, la poca probabilidad del diagnóstico post mortem y la dificultad para detectar las intoxicaciones subclínicas. Los animales que llegan a los centros de recuperación representan un porcentaje pequeño de la cantidad real de casos, por lo que el abordaje terapéutico en los animales encontrados puede resultar beneficioso a nivel individual pero tiene un impacto relativamente pequeño a nivel global. La prevalencia de esta intoxicación, de especial relevancia en animales bioindicadores de la salud de los ecosistemas, pone en evidencia la necesidad de reducir la liberación del tóxico en los ecosistemas, implementando estudios y acciones tanto a nivel clínico como a nivel medioambiental.

BIBLIOGRAFÍA

An J, Cai T, Che H, Yu T, Cao Z, Liu X, Zhao F, Jing J, Shen X, Liu M, Du K, Chen J, Luo W, 2014. The changes of miRNA expression in

- rat hippocampus following chronic lead exposure. *Toxicology Letters*, 229(1), pp.158–166. doi: 10.1016/j.toxlet.2014.06.002.
- Basile A, Sorbo S, Pisani T, Paoli L, Munzi S, Loppi S, 2012. Bioaccumulation and ultrastructural effects of Cd, Cu, Pb and Zn in the moss *Scorpiurum circinatum* (Brid.) Fleisch. & Loeske. *Environmental Pollution*, 166, pp.208–211. doi: 10.1016/j.envpol.2012.03.018.
- Carneiro M, Colaço B, Brandão R, Ferreira C, Santos N, Soeiro V, Colaço A, Pires MJ, Oliveira PA, Lavín S., 2014. Biomonitoring of heavy metals (Cd, Hg, and Pb) and metalloid (As) with the Portuguese common buzzard (*Buteo buteo*). *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(11): 7011–7021. DOI: 10.1007/s10661-014-3906-3.
- Ferreira H, Beldomenico PM, Marchese K, Romano M, Caselli A, Correa AI, Uhart M., 2015. Lead exposure affects health indices in free-ranging ducks in Argentina. *Ecotoxicology*, 24, pp.735–745. doi: 10.1007/s10646-015-1419-7.
- Flora, G., Gupta, D. & Tiwari, A., 2012. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdisciplinary toxicology*, 5(2), pp.47–58. doi: 10.2478/v10102-012-0009-2.
- De Francisco, N., Ruiz Troya, J.D. & Agüera, E.I., 2003. Lead and lead toxicity in domestic and free living birds. *Avian pathology: journal of the W.V.P.A.*, 32(November), pp.3–13. doi: 10.1080/0307945021000070660.
- Gan, R., 2014. Acute Lead Poisoning in a Griffon Vulture (*Gyps fulvus*) in Israel. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 69(3): 163-168.
- Gangoso L, Alvarez-Lloret P, Rodríguez-Navarro AA, Mateo R, Hiraldo F, Donázar JA., 2009. Long-term effects of lead poisoning on bone mineralization in vultures exposed to ammunition sources. *Environmental Pollution*, 157, pp.569–574. doi: 10.1016/j.envpol.2008.09.015.
- Gil-Sánchez JM, Molleda S, Sánchez-Zapata JA, Bautista J, Navas I, Godinho R, García-Fernández AJ, Moleón M, 2018. From sport hunting to breeding success : Patterns of lead ammunition ingestion and its effects on an endangered raptor. *Science of the Total Environment*, 613–614, pp.483–491. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.069.
- González F, López I, Suarez L, Moraleda V, Rodríguez C, 2017. Levels of blood lead in Griffon vultures from a Wildlife Rehabilitation Center in Spain. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 143(January), pp.143–150. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.05.010.
- Gurer, H. & Ercal, N., 2000. Can antioxidants be beneficial in the treatment of Lead poisoning? *Free Radical Biology & Medicine*, 29(10), pp.927–945.
- Hernández-Plata E, Quiroz-Compeán F, Ramírez-García G, Barrientos EY, Rodríguez-Morales NM, Flores A, Wrobel K, Wrobel K, Méndez I, Díaz-Muñoz M, Robles J, Martínez-Alfaro M, 2015. Melatonin reduces lead levels in blood, brain and bone and increases lead excretion in rats subjected to subacute lead treatment. *Toxicology Letters*, 233(2), pp.78–83. doi: 10.1016/j.toxlet.2015.01.009.
- Hunt, W.G., 2012. Implications of Sublethal Lead Exposure In Avi-

- an Scavengers. *Journal of Raptor Research*, 46(4), pp.389–393. doi: 10.3356/JRR-11-85.1.
- Mateo, R., Vallverdú, N. & Ortiz, M.E., 2013. Intoxicación por munición de plomo en aves silvestres en España y medidas para reducir el riesgo. *Revista Ecosistemas*, 22(2), pp.61–67. doi: 10.7818/ECOS.2013.22-2.10.
- Ortiz-Santaliestra ME, Resano-Mayor J, Hernández-Matías A, Rodríguez-Estival J, Camarero PR, Moleón M, Real J, Mateo R, 2015. Pollutant accumulation patterns in nestlings of an avian top predator: Biochemical and metabolic effects. *Science of the Total Environment*, 538, pp.692–702. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.08.053.
- Redig, P.T. & Arent, L.R., 2008. Raptor Toxicology. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 11, pp.261–282. doi: 10.1016/j.cvex.2007.12.004.
- Rubio-Franchini, I. & Rico-Martínez, R., 2011. Evidence of lead biomagnification in invertebrate predators from laboratory and field experiments. *Environmental Pollution*, 159(7), pp.1831–1835. doi: 10.1016/j.envpol.2011.03.021.



Edita:



Patrocinan:

